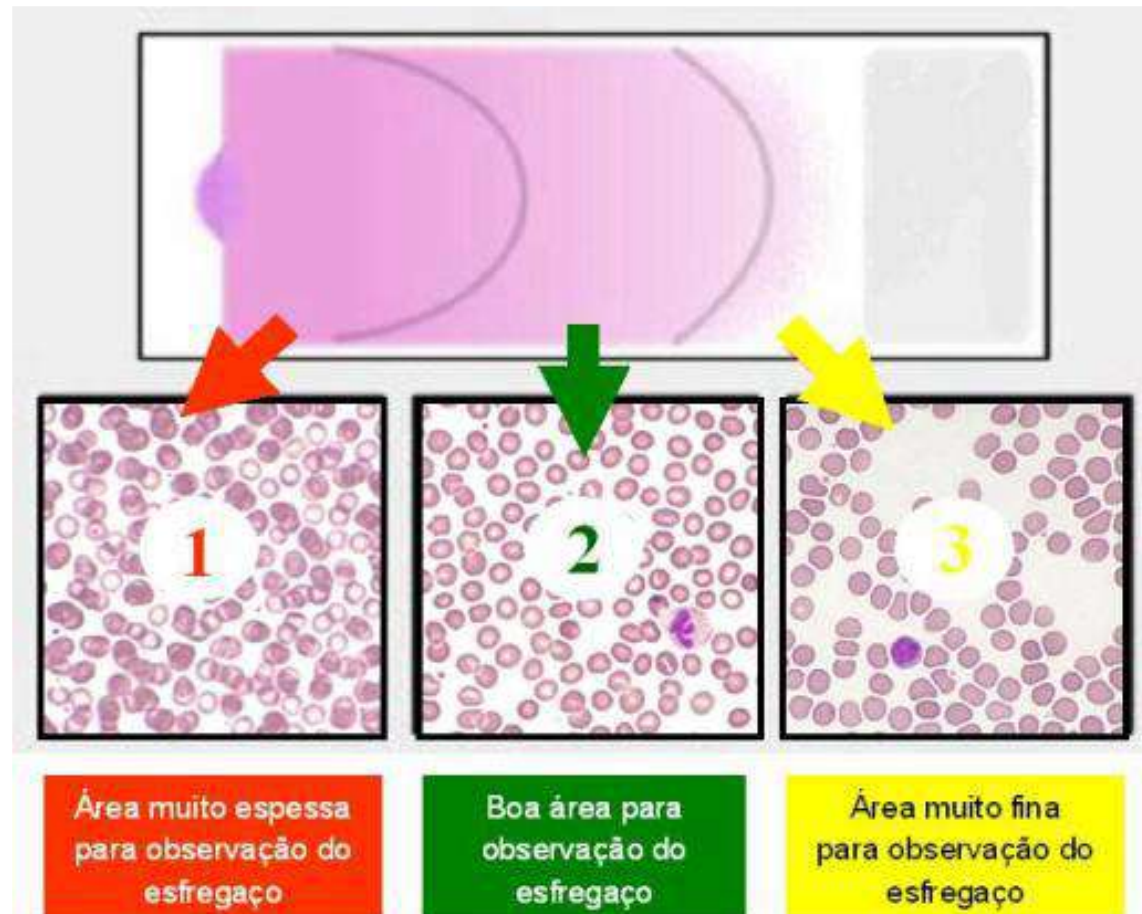


Alterações morfológicas e tintoriais dos GV

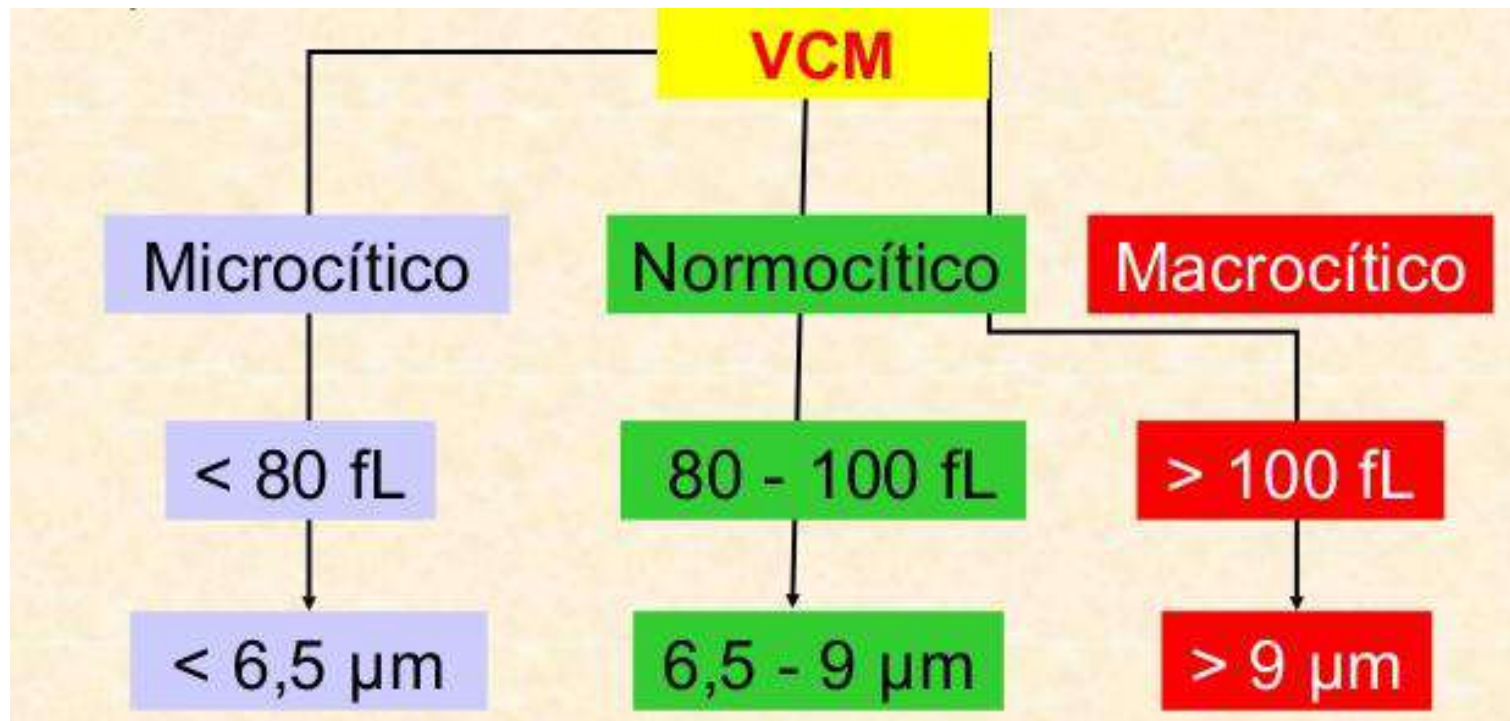
Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

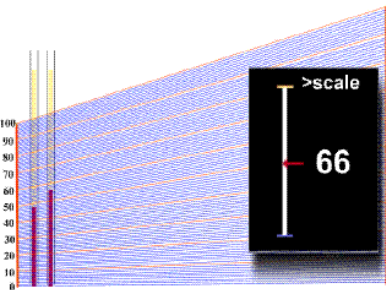


Esfregaço
sanguíneo

Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

I – alterações no tamanho – VCM
(volume corpuscular médio)



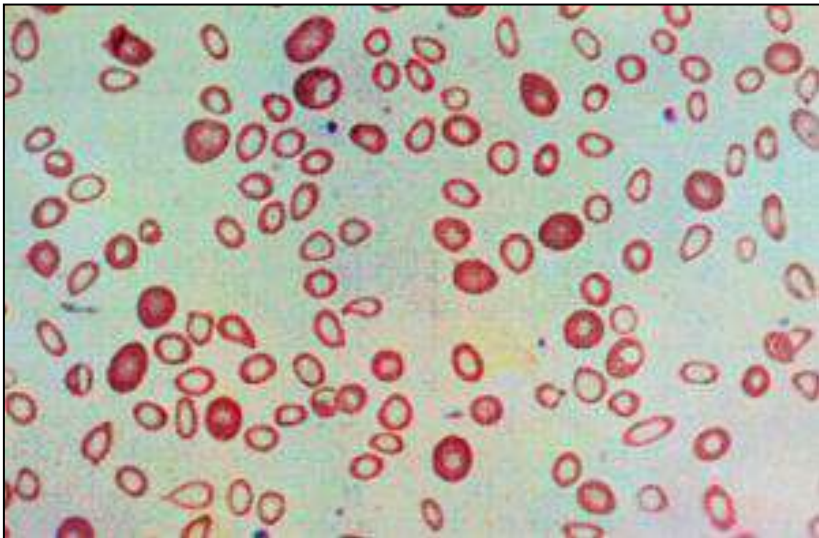


Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

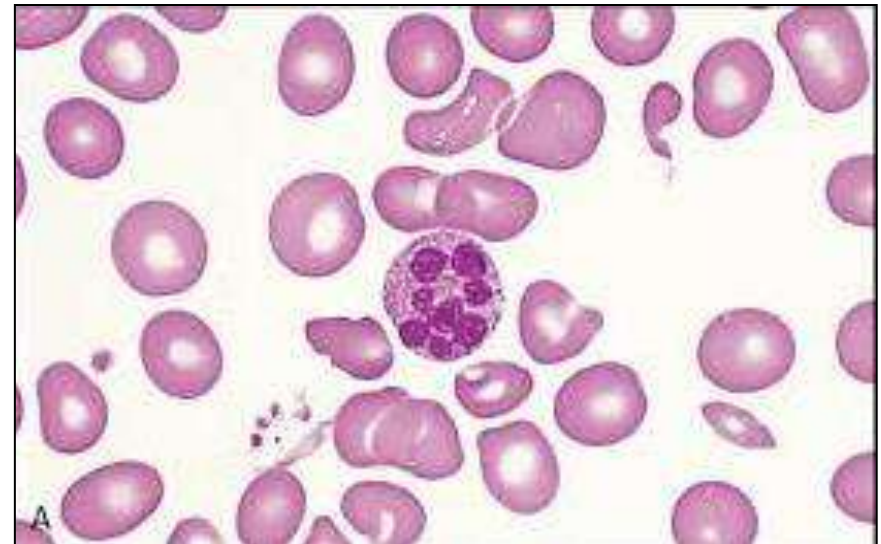
I – alterações no tamanho – VCM

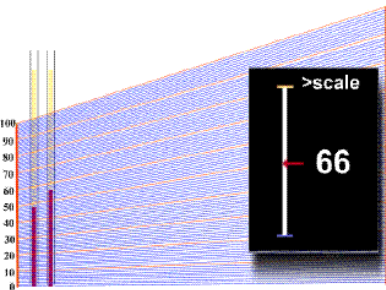
$$\text{VCM} = \text{Ht} \times 10 / n.E$$

microcitose



macrocitose

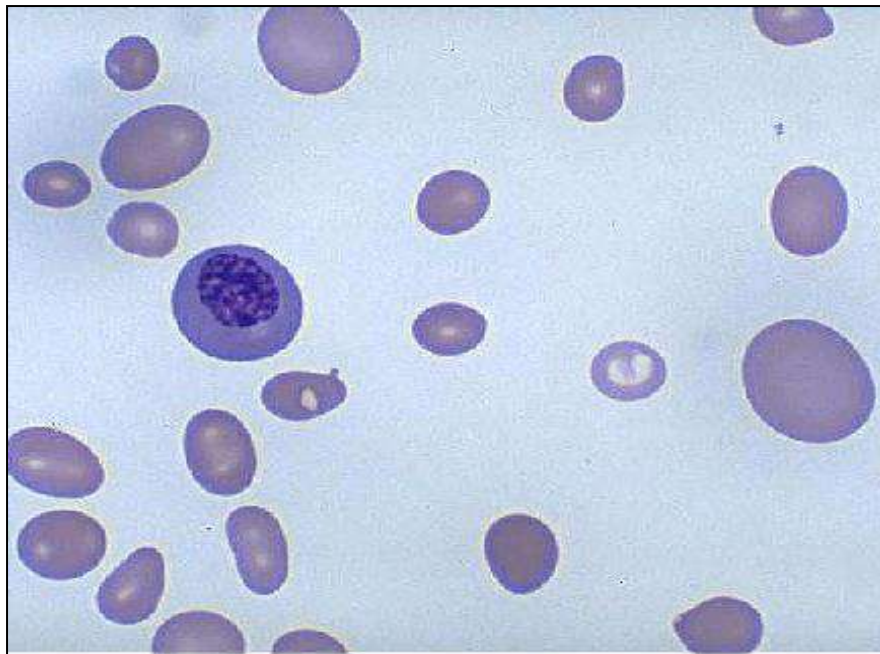




Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

I – alterações no tamanho – RDW (Red cell distribution width)

Anisocitose



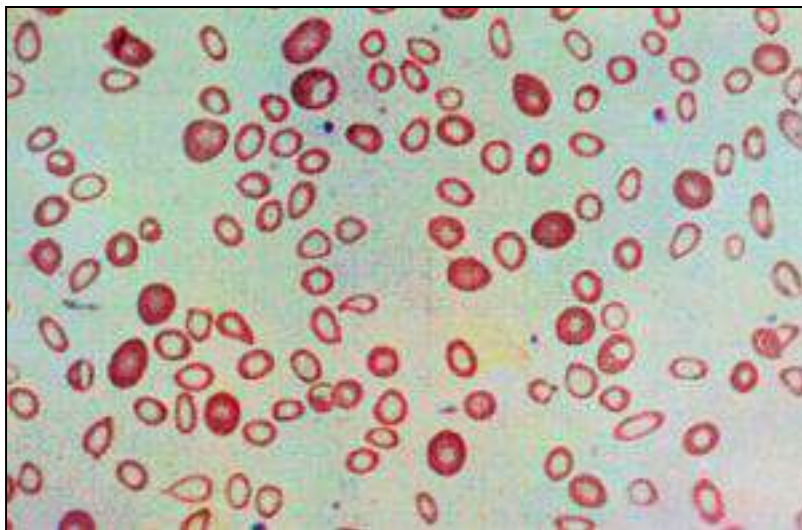
Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

II – alteração na cor – HCM / CHCM

$HCM = Hb \times 10 / n.E$

$CHCM = Hb \times 100 / Ht$

hipocromia



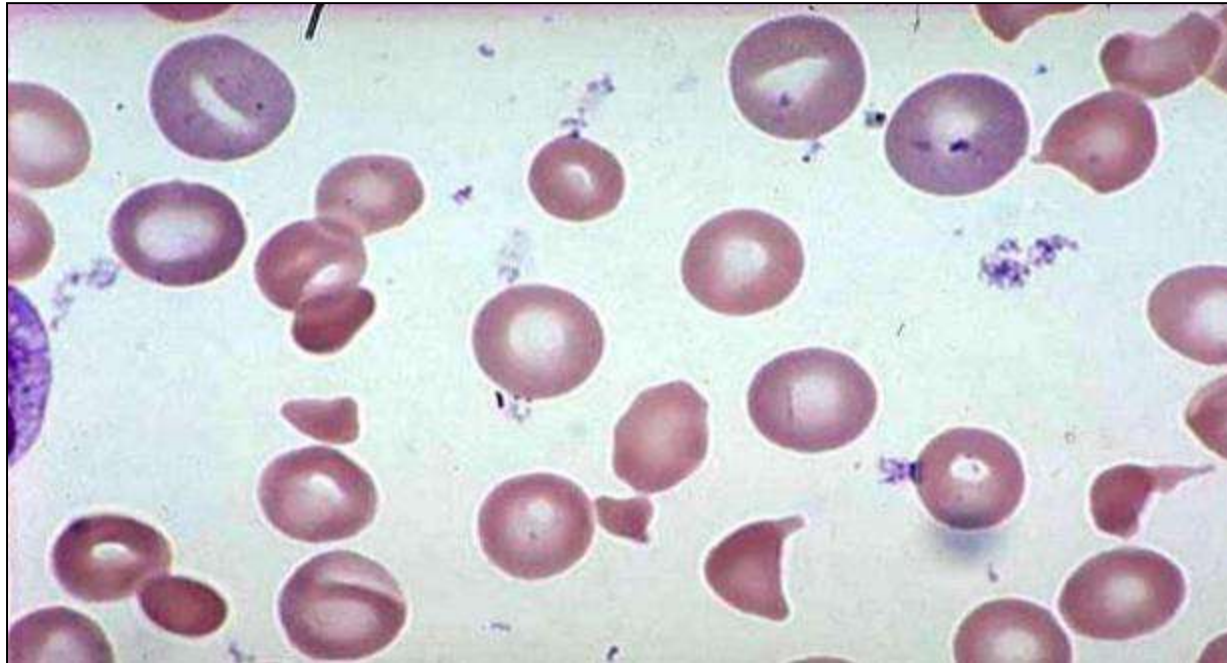
normocromia



HCM – hemoglobina corpuscular média / CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média

Estudo das alterações morfológicas e tintoriais dos GV

II – alteração na cor – **Policromatofilia / policromasia**

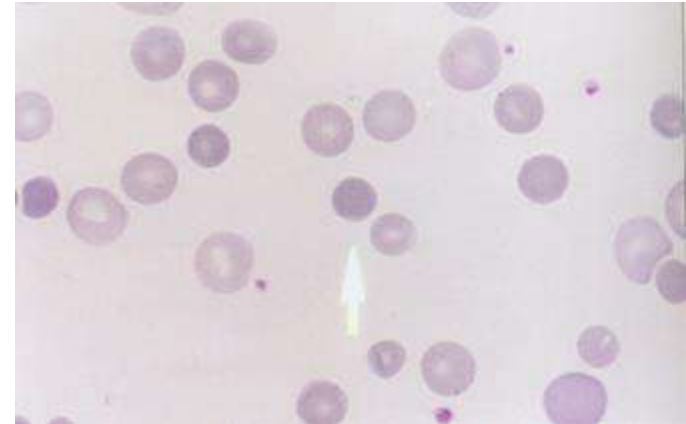


III - Alteração na forma das hemácias

Poiquilocitose ou pecilocitose:

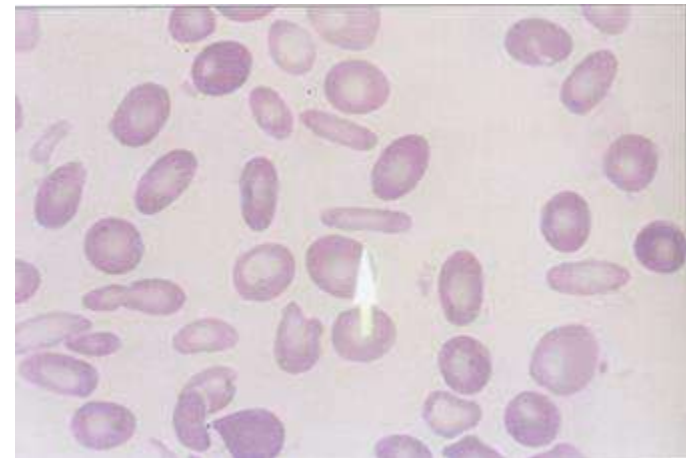
Esferócitos:

esferocitose hereditária,
anemia hemolítica,
queimaduras.



Eliptócitos:

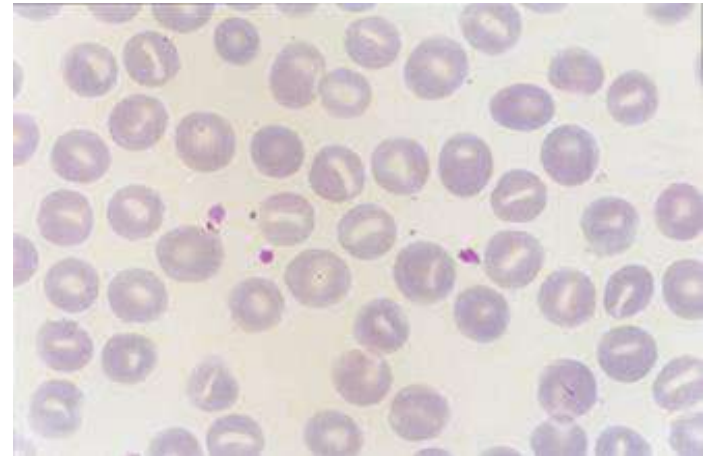
todas as anemias



Poiquilocitose

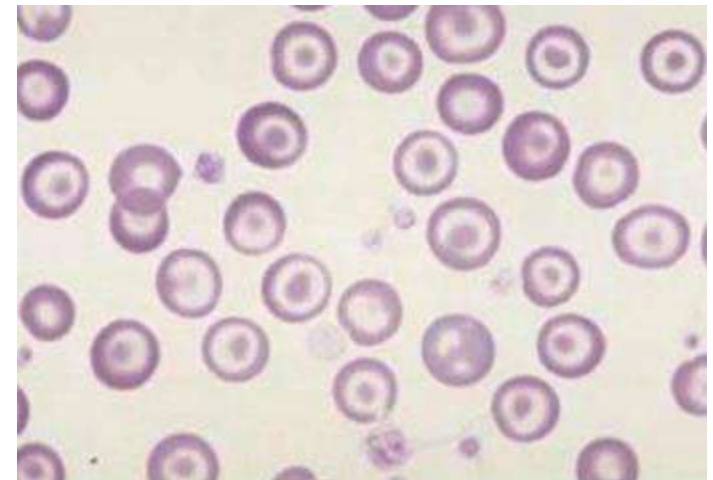
Estomatócitos:

estomatocitose hereditária,
alcoolismo,
doenças hepáticas.



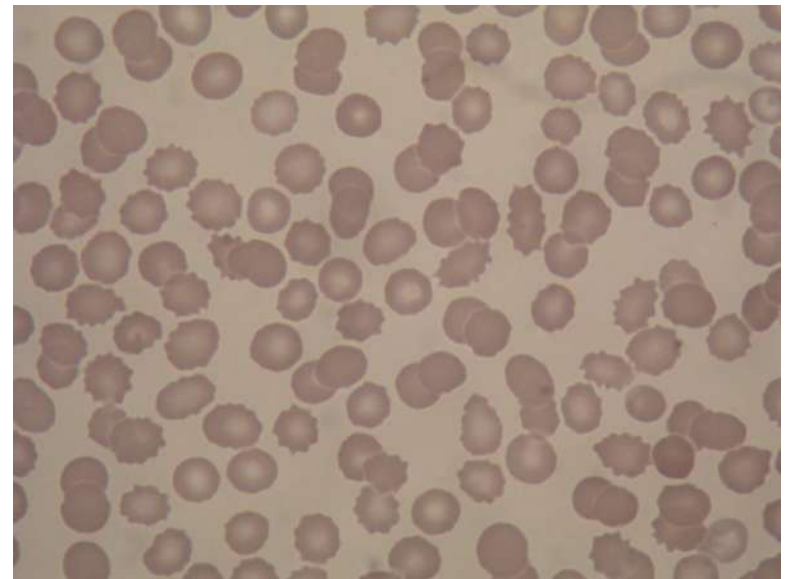
Hemácias em alvo:

beta-talassemias,
Hb C;
anemia falciforme.



Poiquilocitose

Hemácias crenadas
(acantócitos /equinócitos):
artefatos,
stress,
insuficiência renal ($\uparrow$ uréia),
hipotireoidismo,
tratamento com heparina.

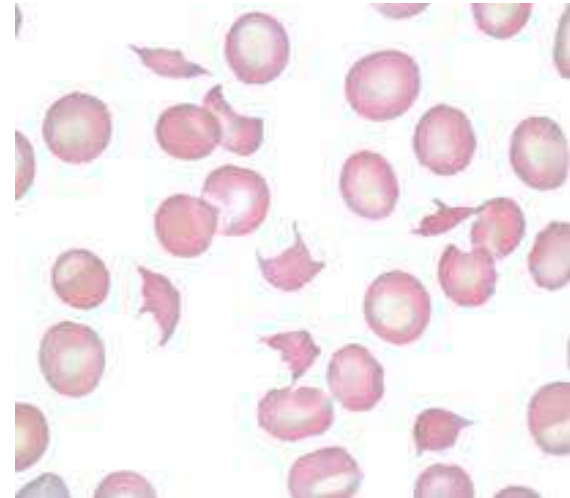


Acantócitos – 5 a 8 espículas / Equinócitos – mais de 10 espículas

Poiquilocitose

Esquizócitos:

anemia hemolítica,
microangiopáticas,
coagulopatias,
queimaduras.



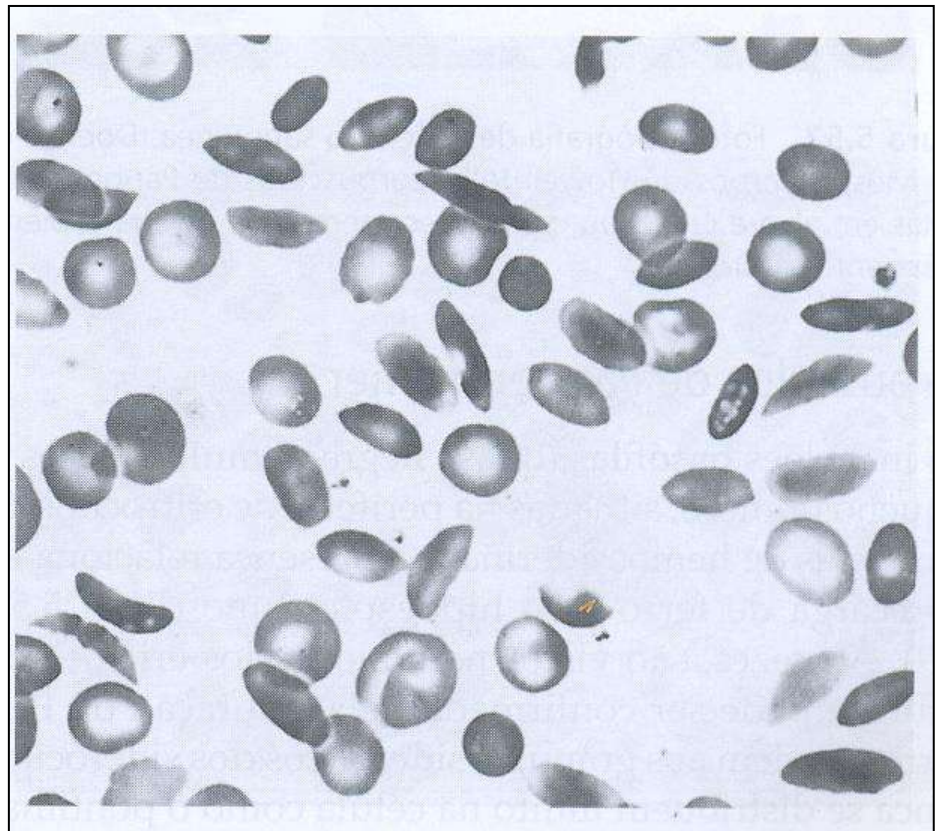
Dacriócitos:

displasia da MO,
mielofibrose,
beta-talassemia.



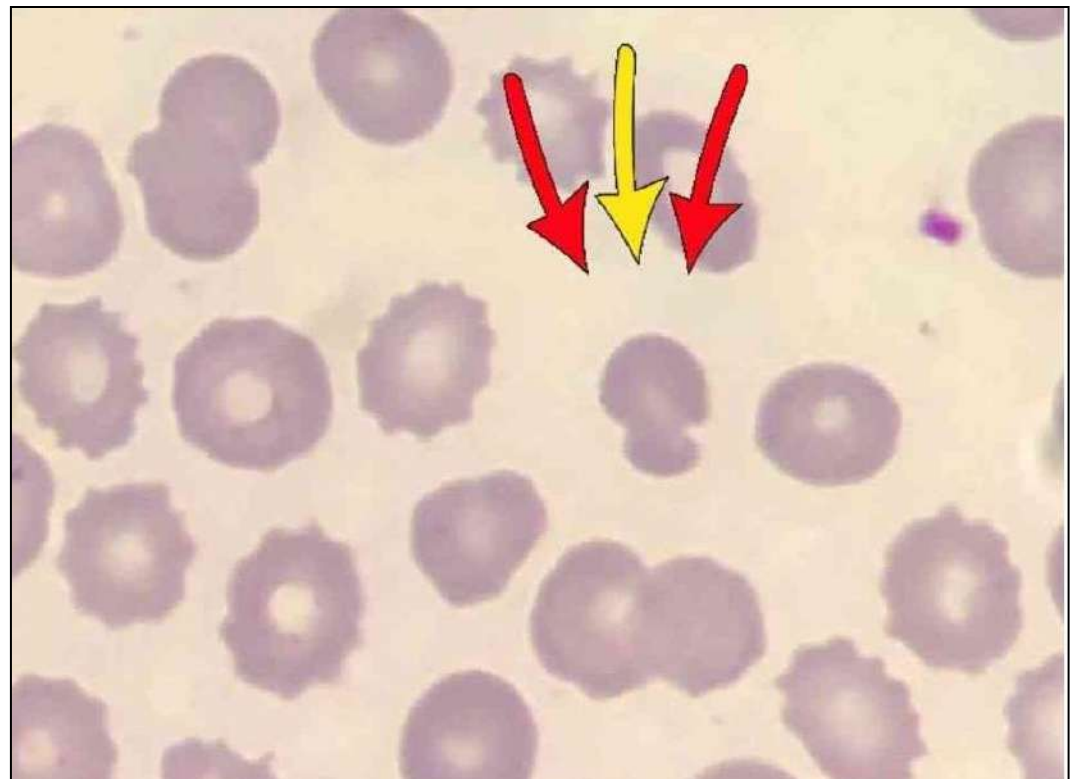
Poiquilocitose

Hemácias em foice:
anemia falciforme



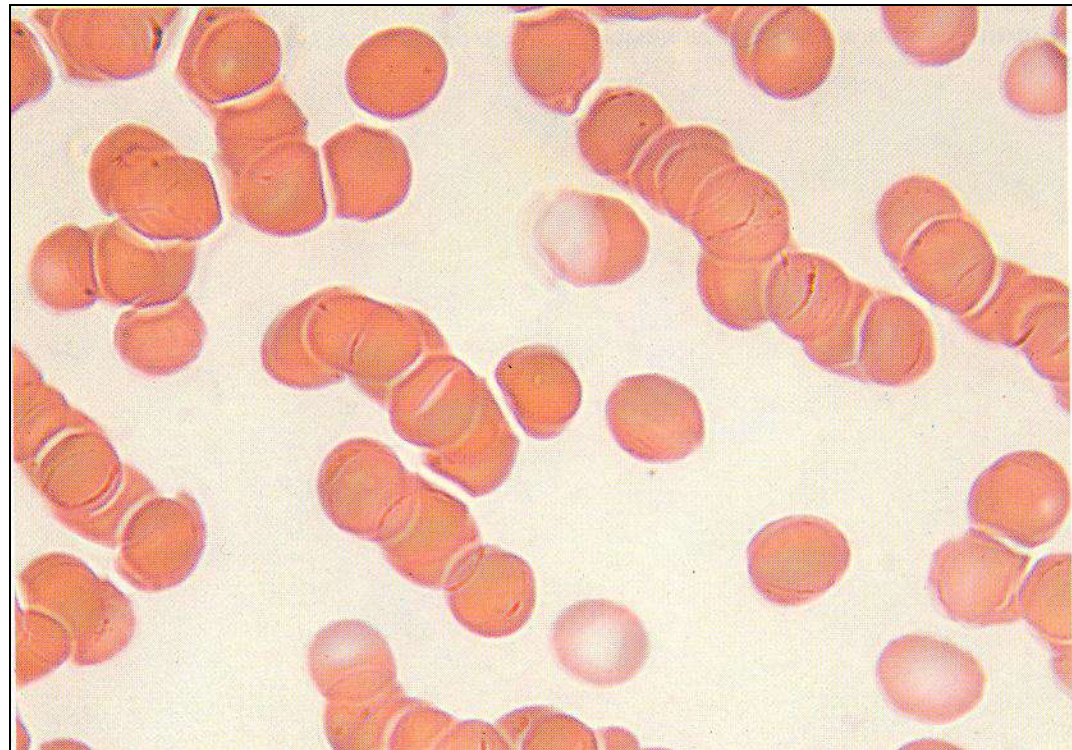
Poiquilocitose

Hemácias cogumelo:
Sars-Cov 2



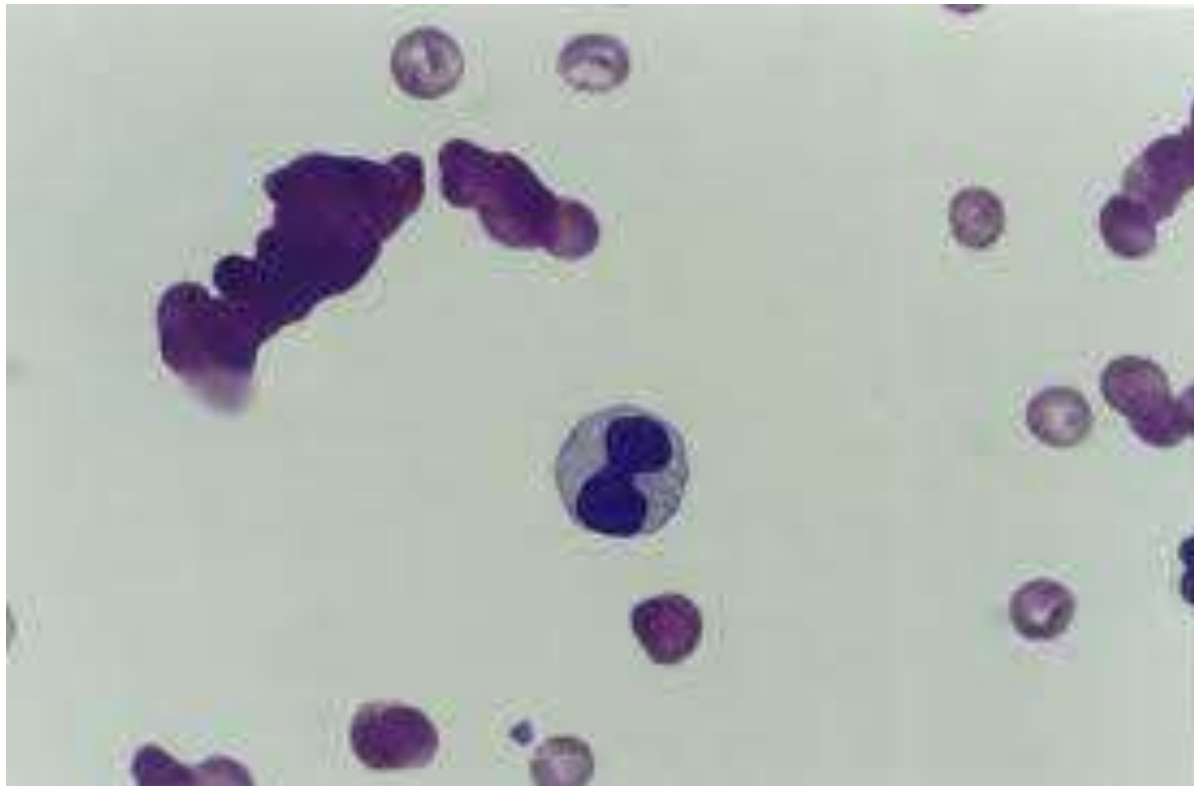
IV - Alterações na distribuição:

Rouleaux  indica a presença de proteínas. Ex: mielomas múltiplos, gravidez (↑ fibrinogênio), inflamação, macroglobulinemia.



IV - Alterações na distribuição:

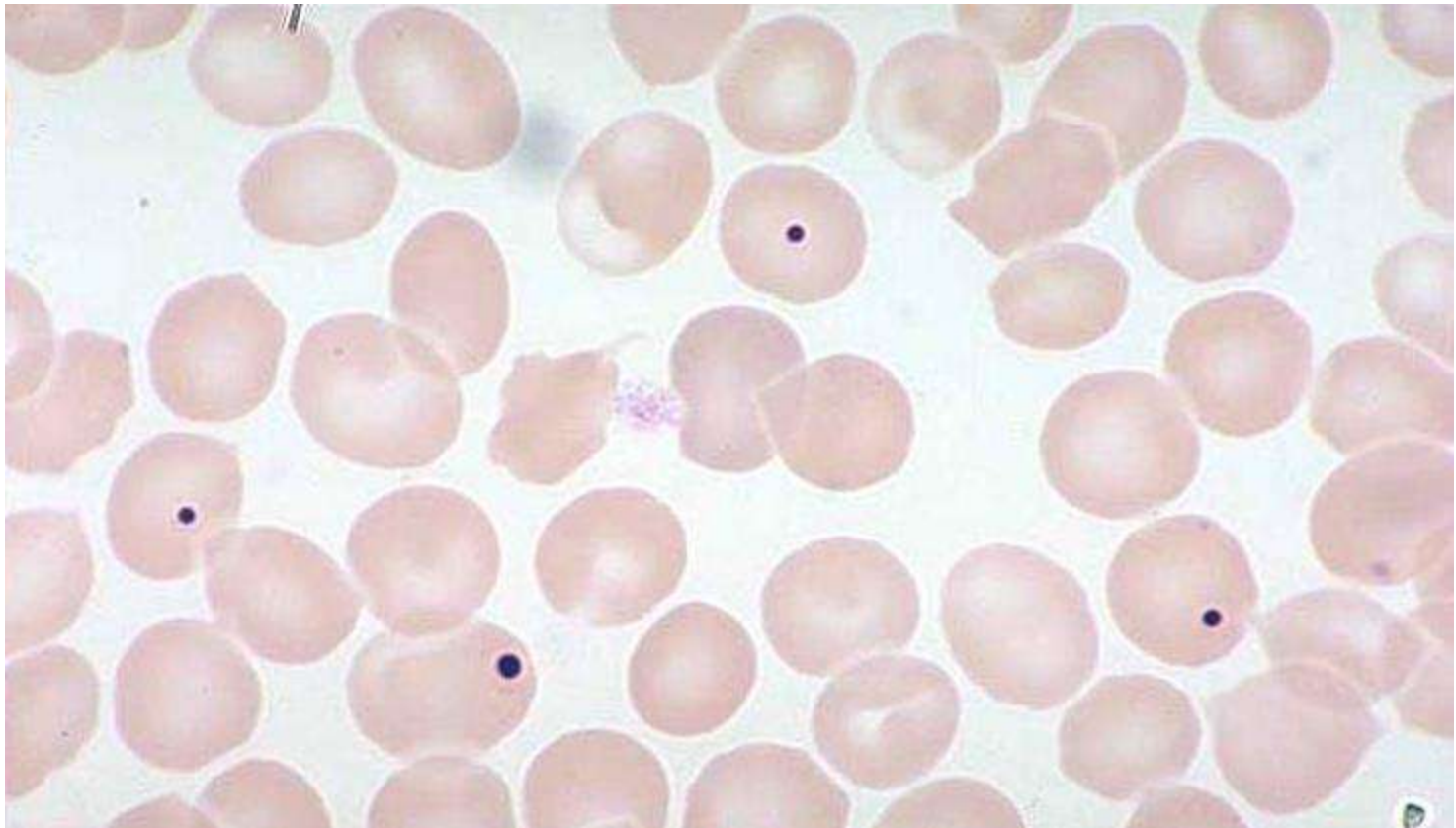
Aglutinação  indica a presença de Ac.
Ex: doenças auto-imunes.



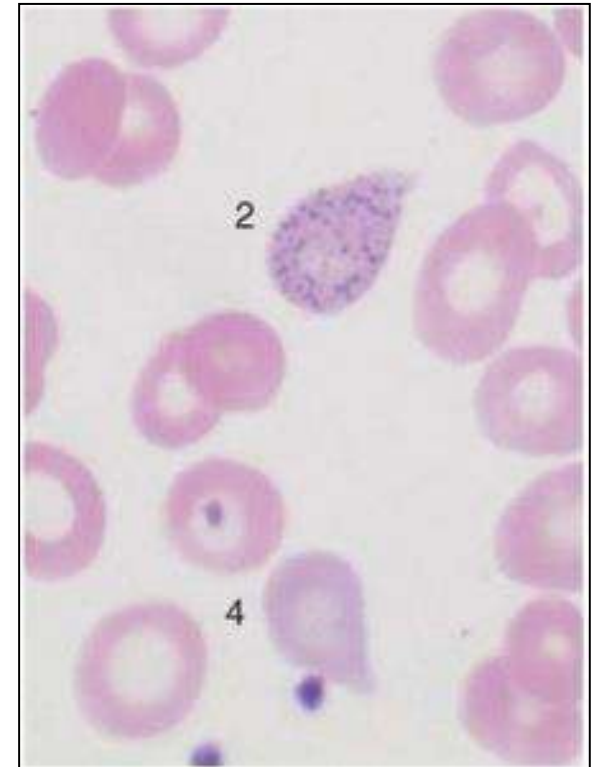
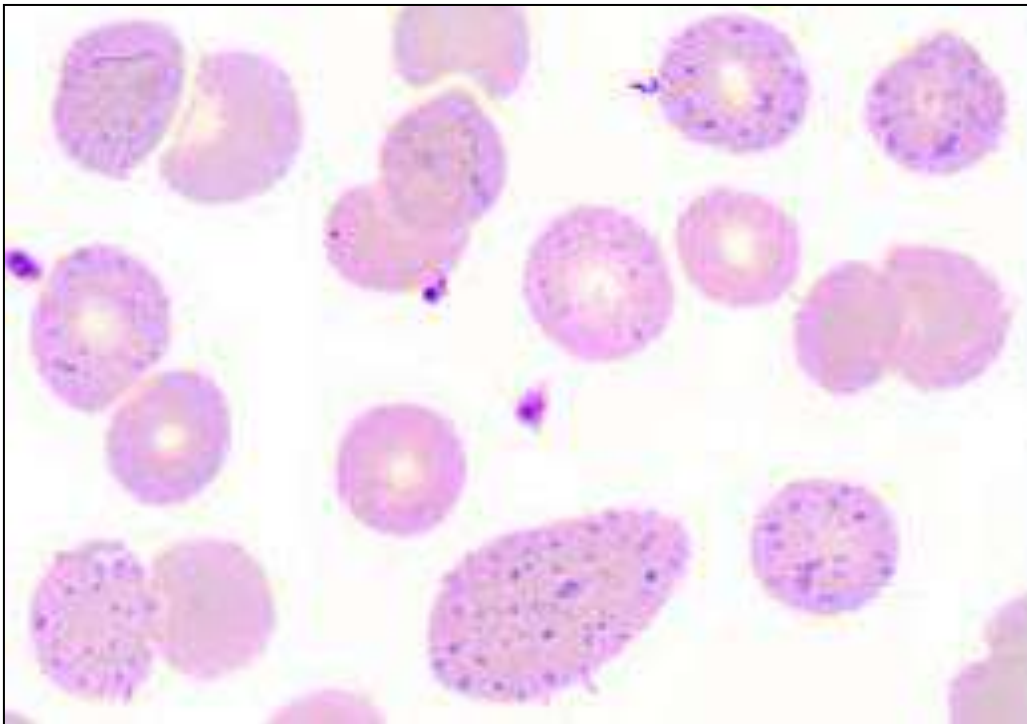
V – inclusões:

Corpúsculo de Howell-Jolly → são restos nucleares (aglomerados de DNA) 1 a 2 aglomerados.

Ex: esplenectomia, em anemias graves (hemolítica), anemia megaloblástica e no alcoolismo.

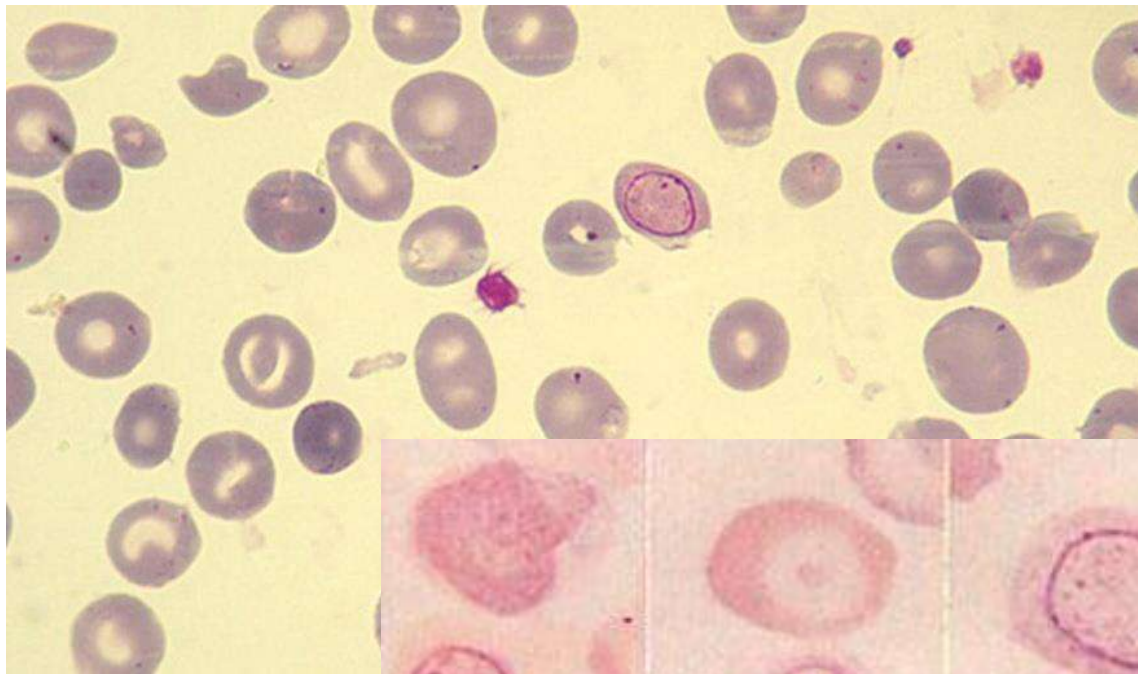


Pontilhado basófilo → são agregados de ribossomos.
Ex: talassemias, anemia megaloblástica e anemias sideroblásticas;
intoxicações por metais pesados (chumbo e mercúrio).



Anéis de Cabot → são restos de membrana nuclear do fuso mitótico.

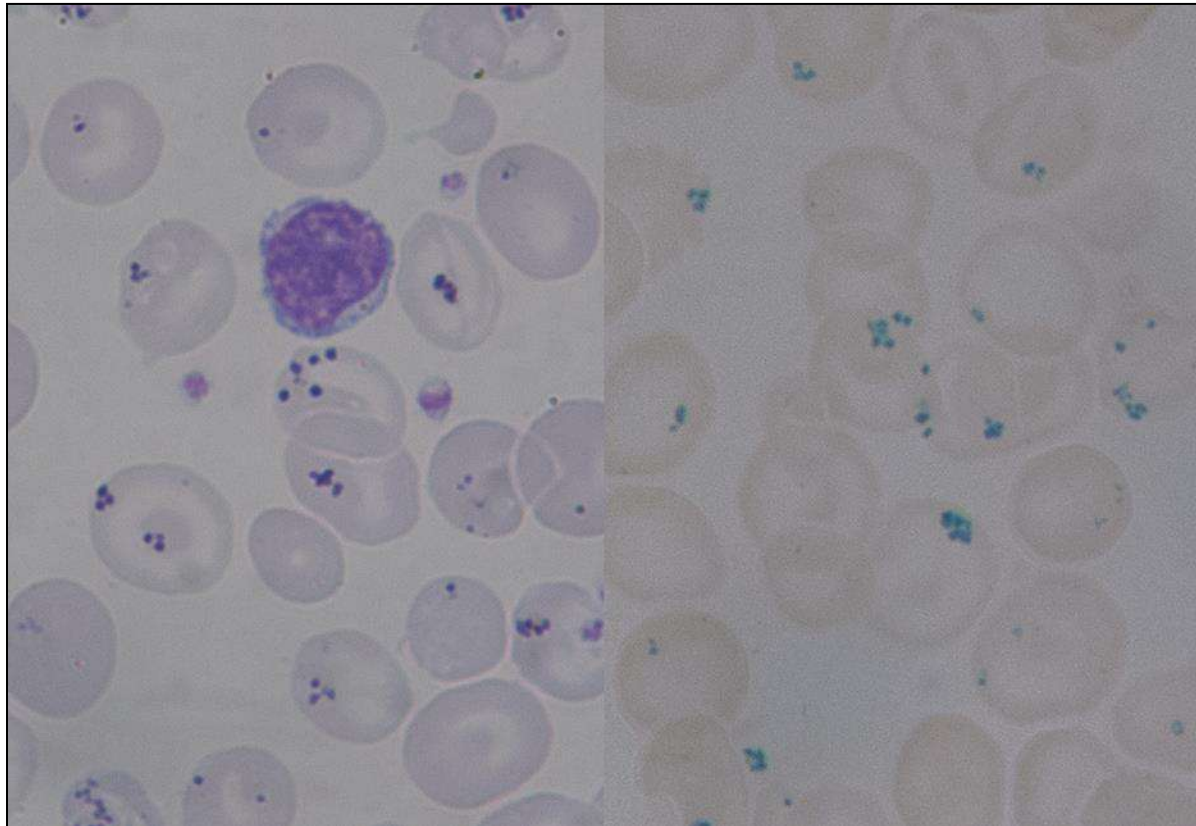
Ex: anemias severas (anemia hemolítica) e intoxicação por chumbo.



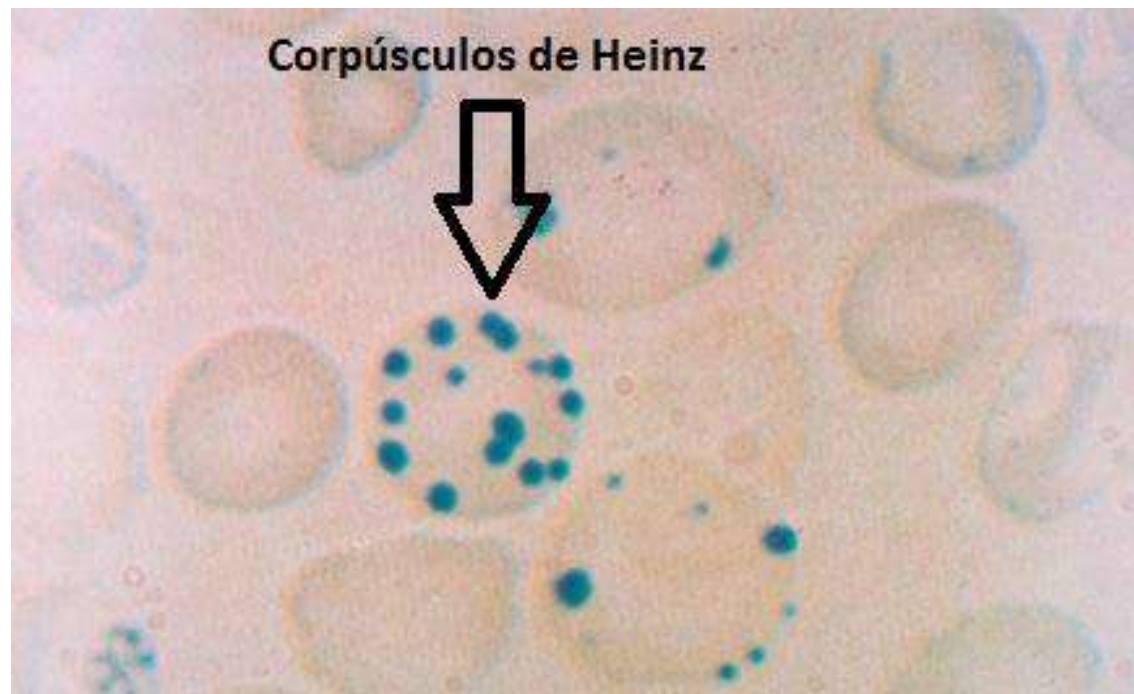
Corpúsculo de Pappenheimer → grânulos de ferro no interior os eritrócitos.

Coloração – azul da Prússia

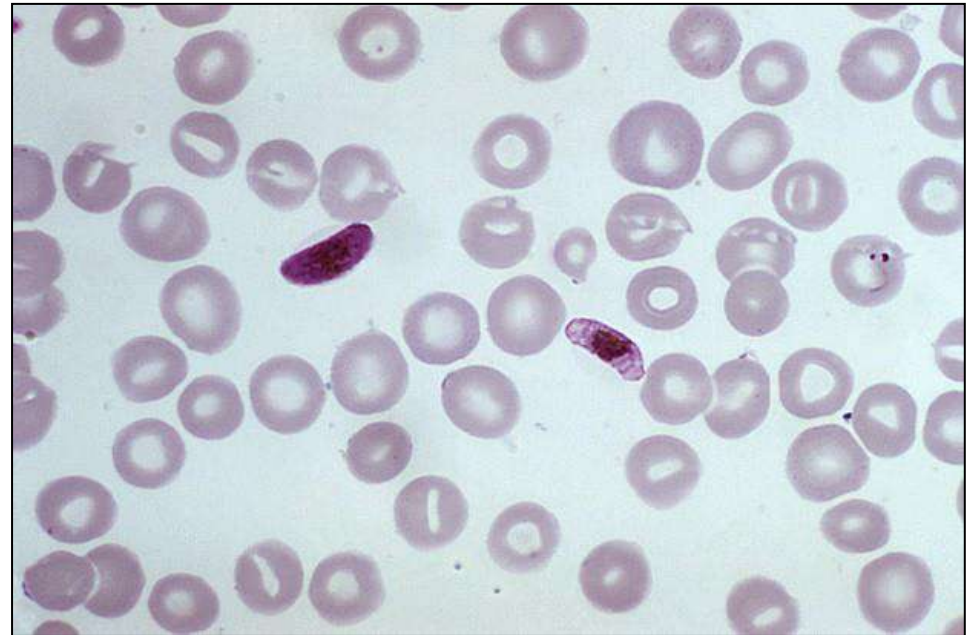
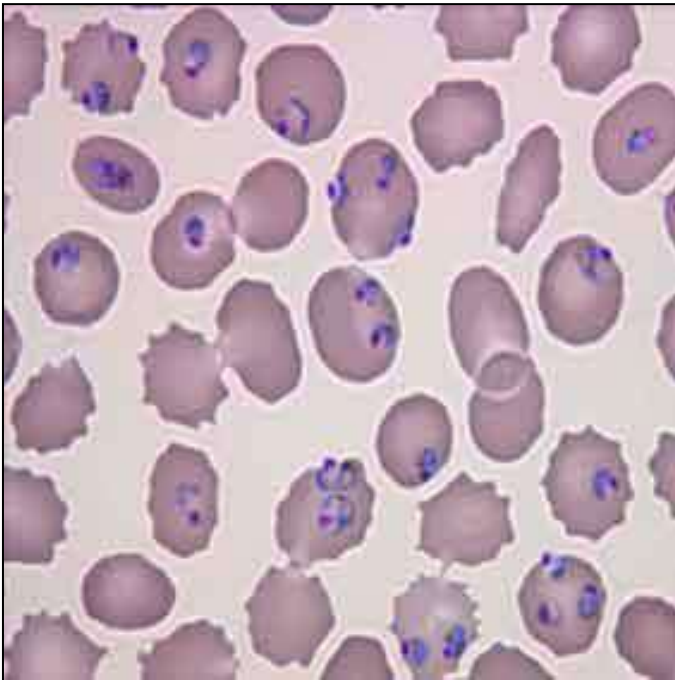
Ex: pacientes esplenectomizados; anemia sideroblástica, beta talassemia maior.



Corpúsculos de Heinz → hemoglobina desnaturada
Ex: hemoglobinopatias instáveis (deficiência da enzima G6PD).
Coloração – azul cresil brilhante



Parasitas → *Plasmodium trophozoites/falciparum*
Ex: Malária.



Caso clínico



Paciente, M.S., 2 anos, feminino, apresentando vômito deu entrada na emergência com sinais tóxicos. No histórico da criança, os pais relataram que ela estava comendo cascas de tintas da parede.

Foi realizado o eritrograma:

GV: N

Hb: baixa

Ht: baixo

VCM: baixo

HCM: baixo

CHCM: baixo

RDW: aumentado

1.Descreva uma possível observação do esfregaço sanguíneo da série vermelha.

Anemias

Anemias

DEFINIÇÃO (OMS)

Redução da massa de eritrócitos ou decréscimo na concentração de hemoglobina

DEFEITO FISIOLÓGICO

Redução na capacidade transportadora de oxigênio e consequente menor oxigenação dos tecidos = disfunção de órgãos

Anemias

Valor da Hb varia de acordo com a idade, sexo e condição fisiológica:

Crianças (0 – 4 anos): Hb $\geq$ **11,0 g/dL**

Crianças (5 – 11 anos): Hb $\geq$ **11,5 g/dL**

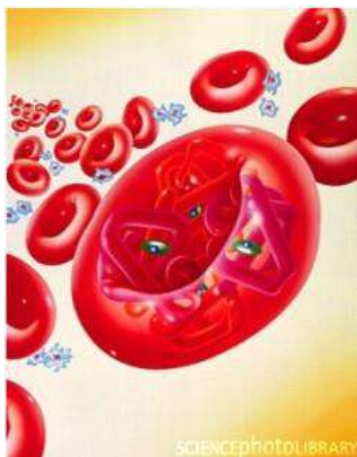
Crianças (12 – 14 anos): Hb $\geq$ **12,0 g/dL**

Mulheres não gestantes > 15 anos: Hb $\geq$ **12,0 g/dL**

Mulheres gestantes: Hb $\geq$ **11,0 g/dL**

Homens > 15 anos: Hb $\geq$ **13,0 g/dL**

Classificação Morfológica das Anemias



Índices Hematimétricos (VCM, HCM, CHCM) e morfologia celular:

- ❖ Normocrômica/normocítica;
- ❖ **Hipocrômica/microcítica;**
- ❖ Normocrômica/macrocítica.

Tamanho do eritrócito

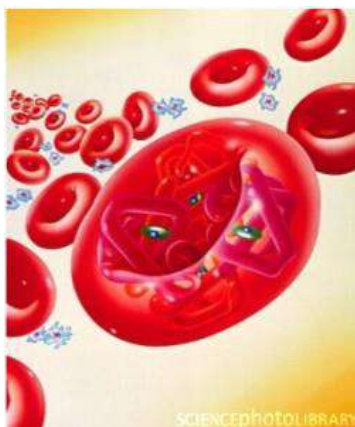
$$\text{VCM} = \text{Ht} \times 10 / \text{n.E}$$

Cor do eritrócito

$$\text{HCM} = \text{Hb} \times 10 / \text{n.E}$$

$$\text{CHCM} = \text{Hb} \times 100 / \text{Ht}$$

Classificação Fisiopatológica das Anemias



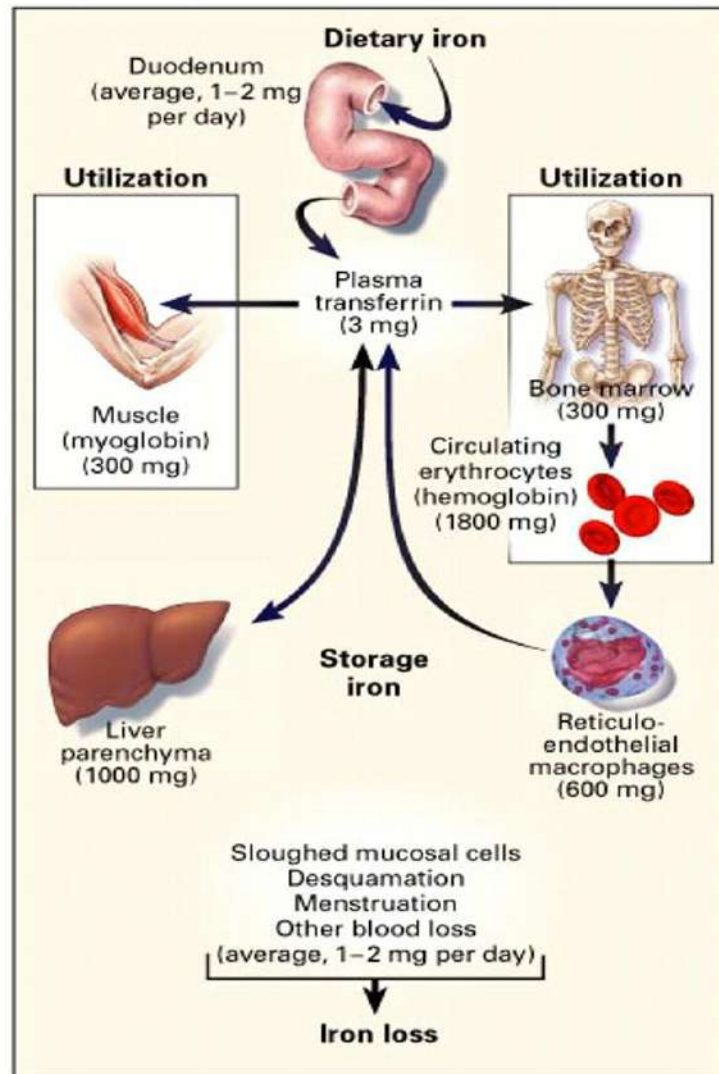
Hipocrômica/microcítica

- desordem no metabolismo do ferro: **anemia por deficiência de ferro**
anemia das doenças crônicas
- desordem na síntese de globina: **talassemias**
hemoglobinas variantes
- desordem na síntese do heme e porfirinas: **anemia sideroblástica**

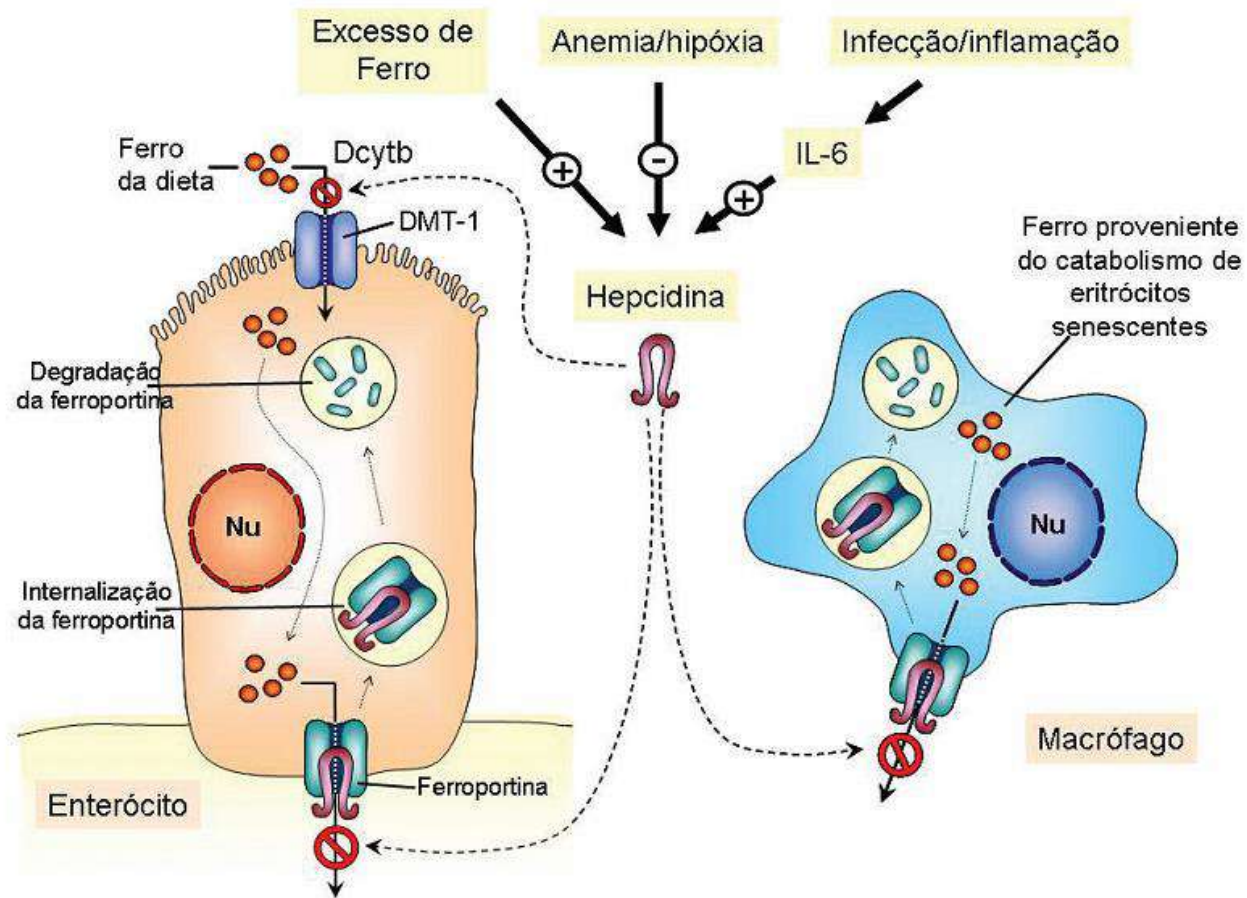


Anemia por Deficiência de Ferro

Distribuição do Ferro

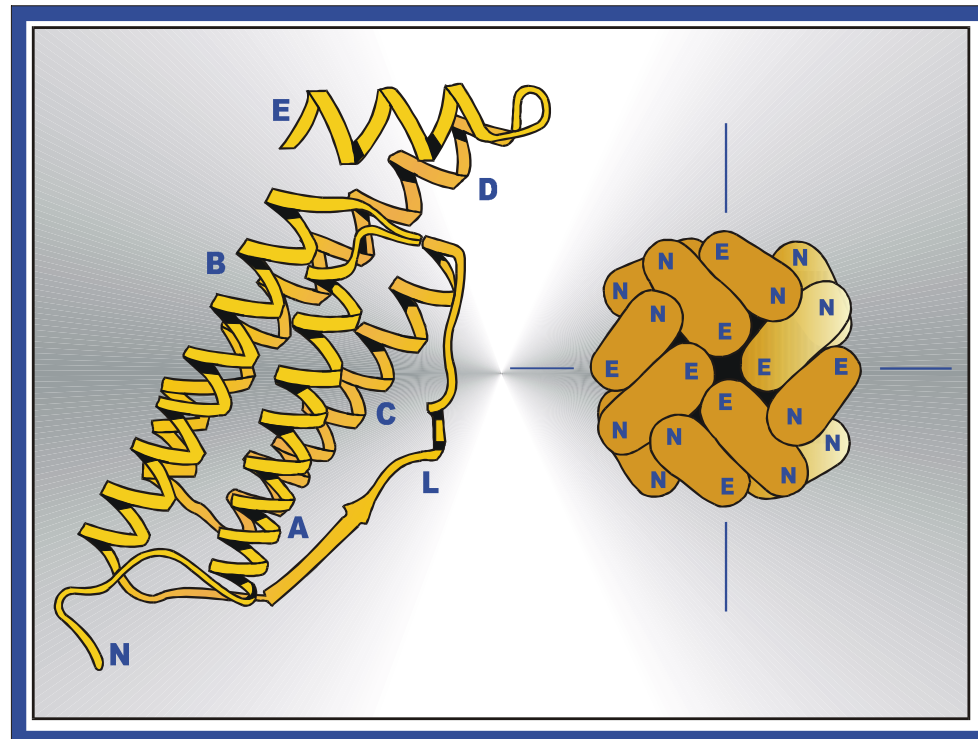


Ação da hepcidina no metabolismo do ferro

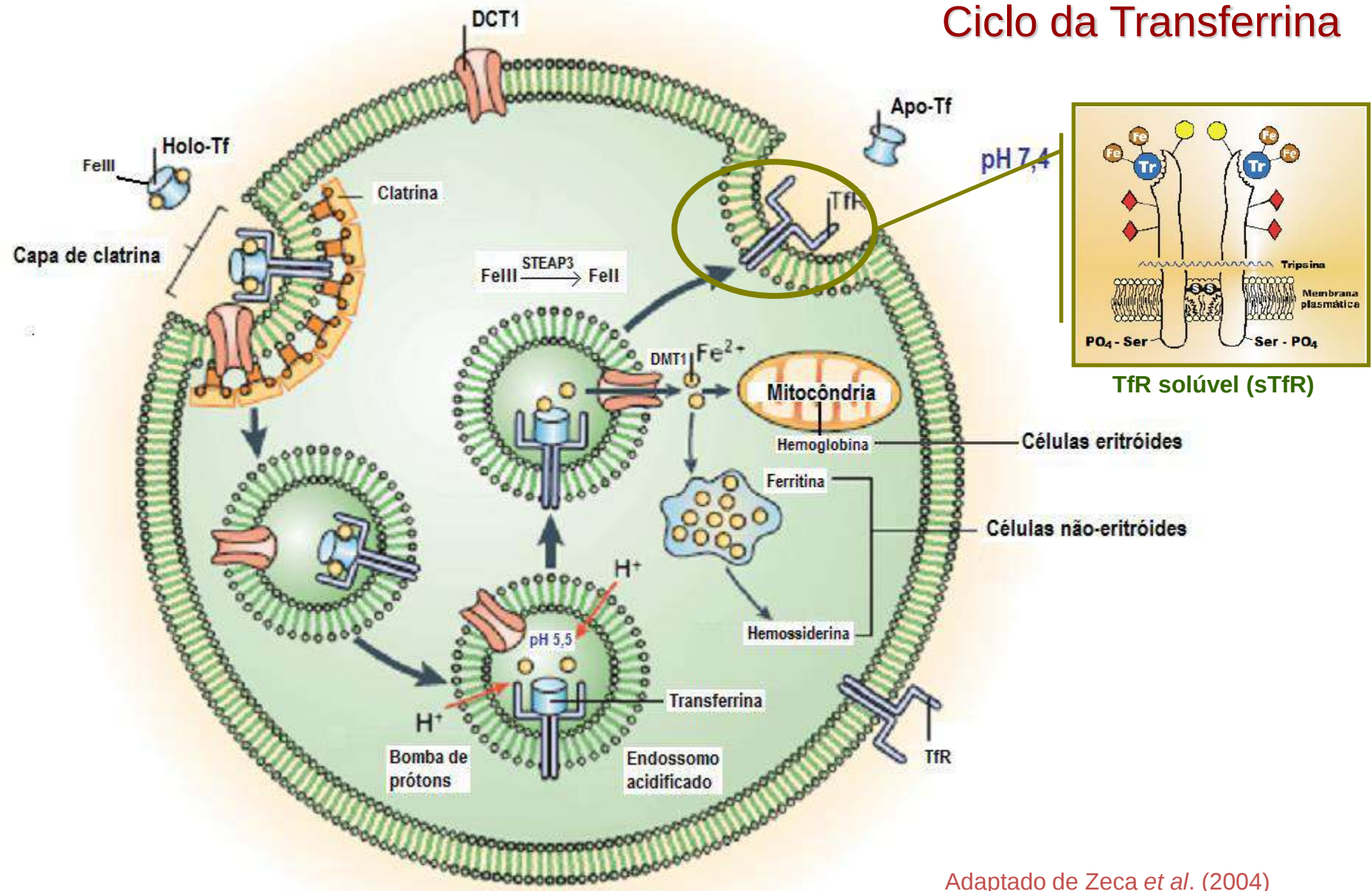


Ferritina

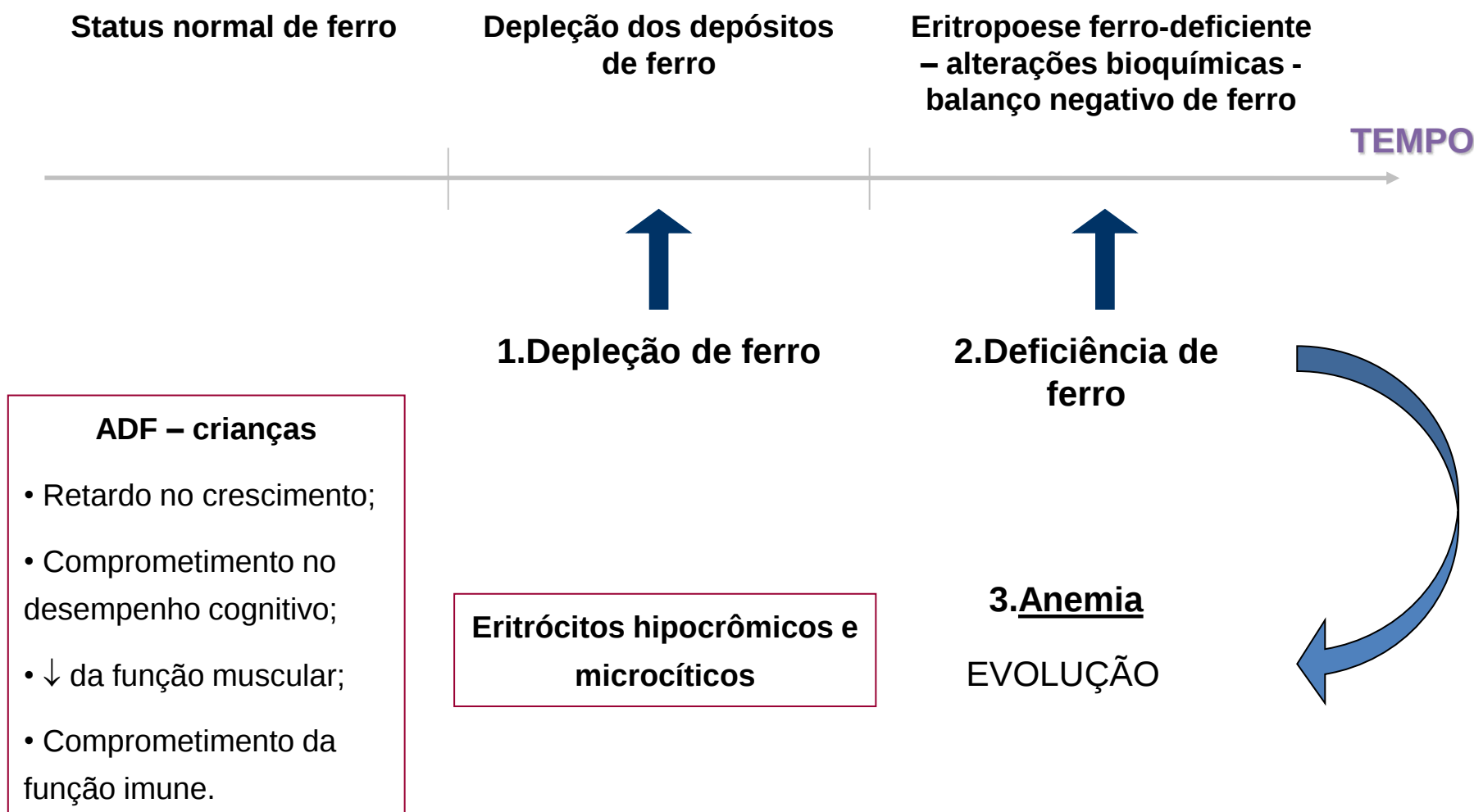
Proteína envolvida no estoque de ferro;
Capaz de estocar até 4500 átomos de ferro;
Pequena quantidade na circulação.



Ciclo da Transferrina

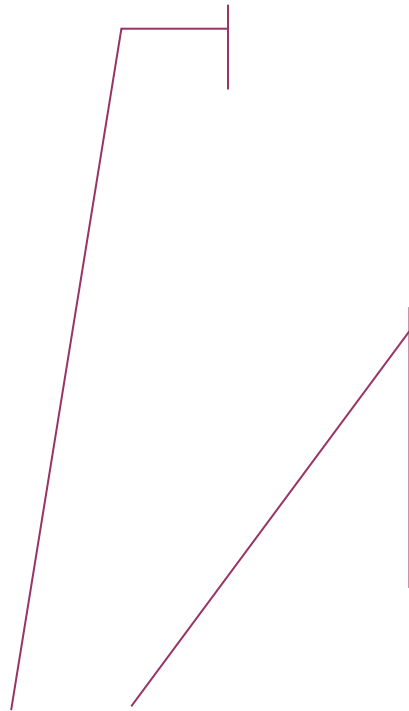


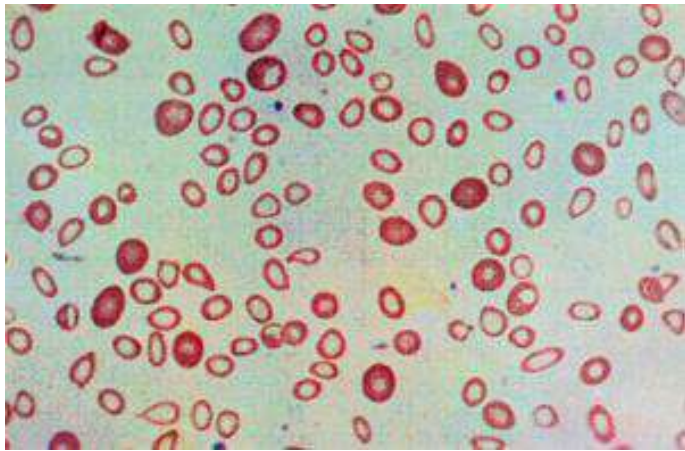
Etapas - Anemia por Deficiência de Ferro



Anemia por Deficiência de Ferro

Causas





Diagnóstico Laboratorial da Anemia por Deficiência de Ferro

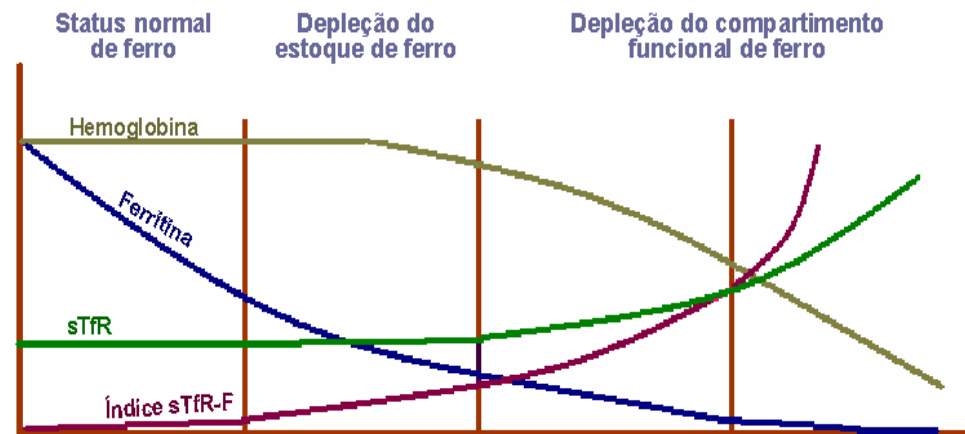


Evidências hematológicas

- Eritrócitos hipocrômicos e microcíticos (VCM e HCM ↓);
- Anisocitose (RDW ↑);
- Poiquilocitose pode ou não ser observada;

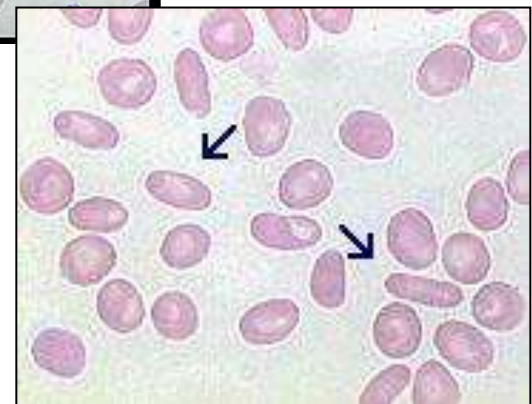
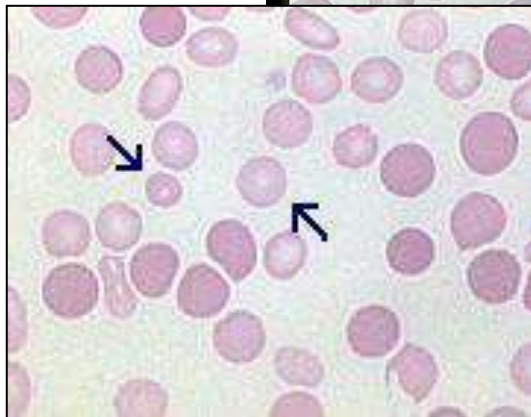
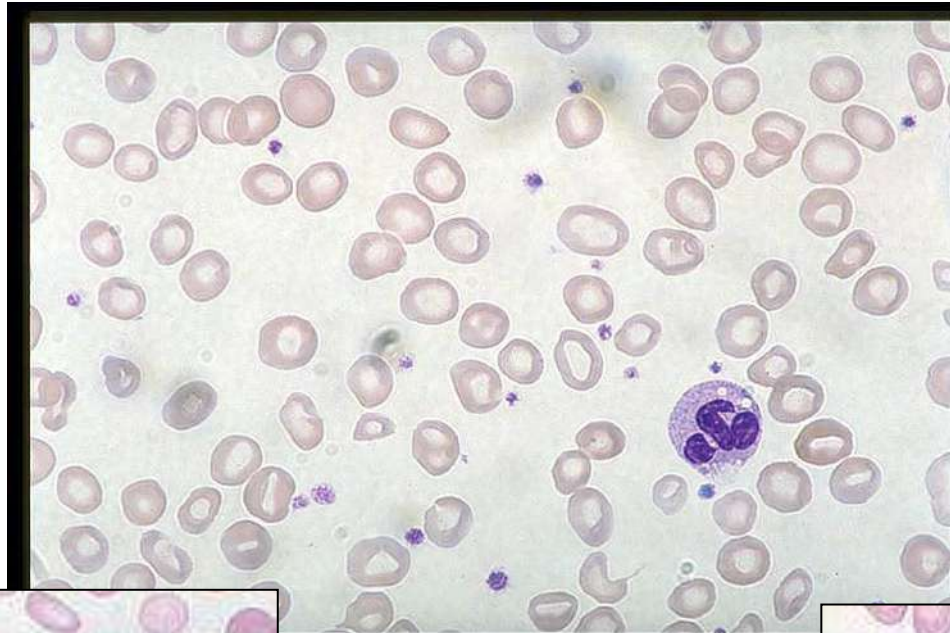
Evidências bioquímicas (status férrico)

- Ferro sérico ↓;
- Ferritina ↓;
- IST ↓;
- CTLF N/ ↑;
- sTfR ↑.

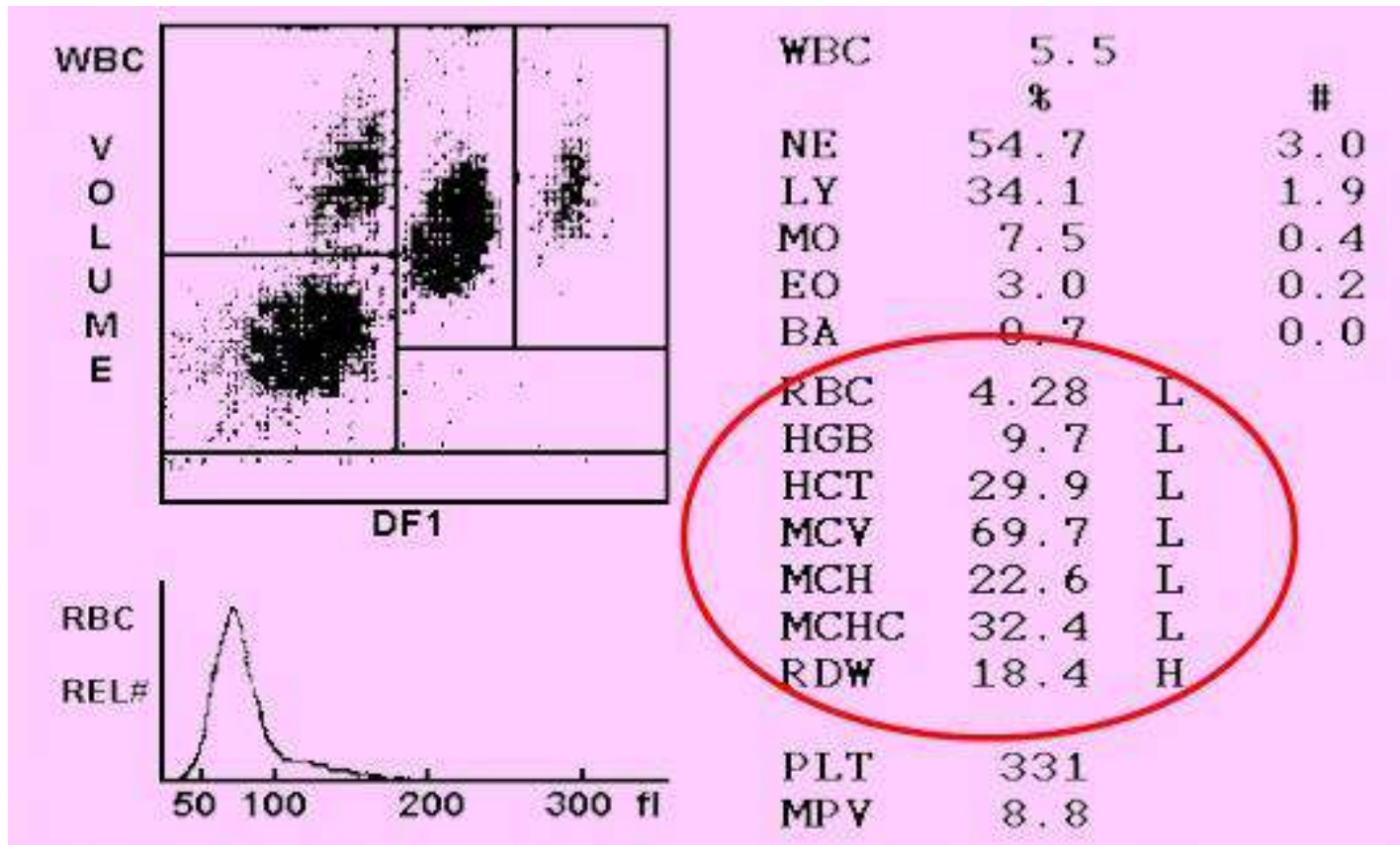


Adaptado de Suominen et al (1998).

Diagnóstico Laboratorial da Anemia por Deficiência de Ferro



Diagnóstico Laboratorial da Anemia por Deficiência de Ferro





Anemia das Doenças Crônicas

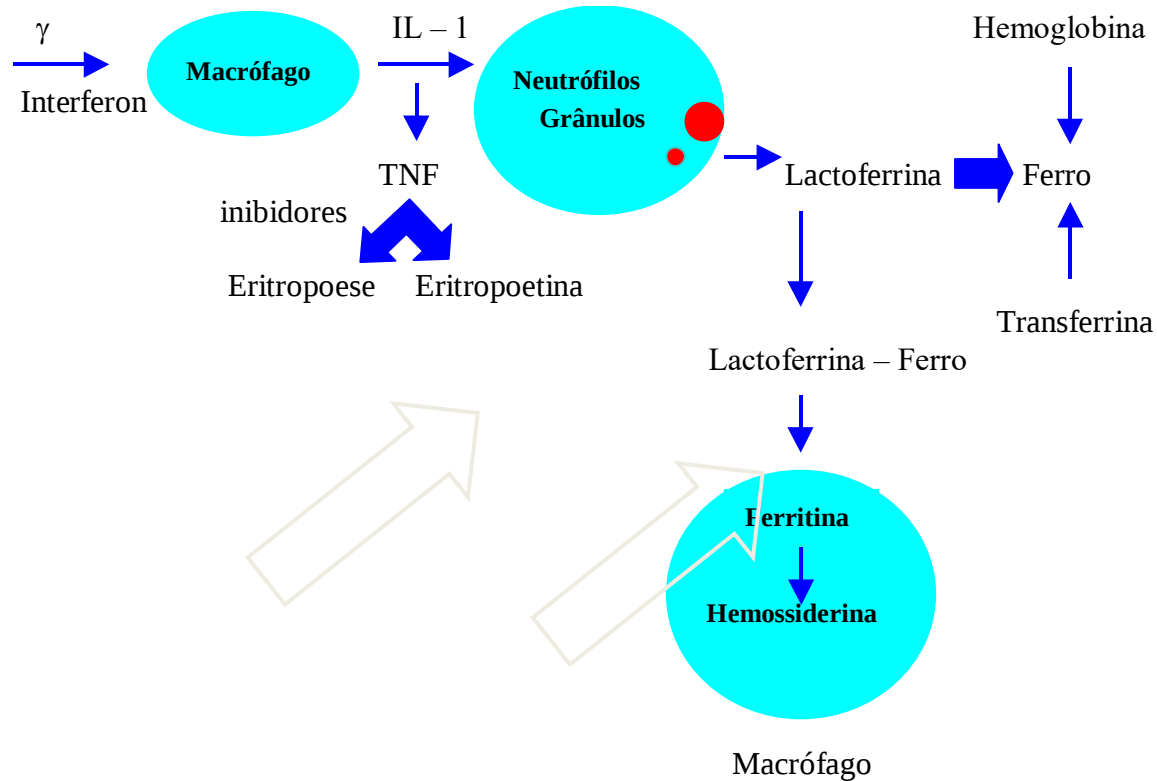
Condições associadas

- a) Infecções crônicas;**
- b) Inflamações crônicas não infecciosas;**
(Artrite reumatóide, febre reumática, LES)
- c) Doenças malignas;**
(Carcinomas, doença de Hodgkin, leucemias, mieloma múltiplo, etc.)

Fisiopatologia - ADC

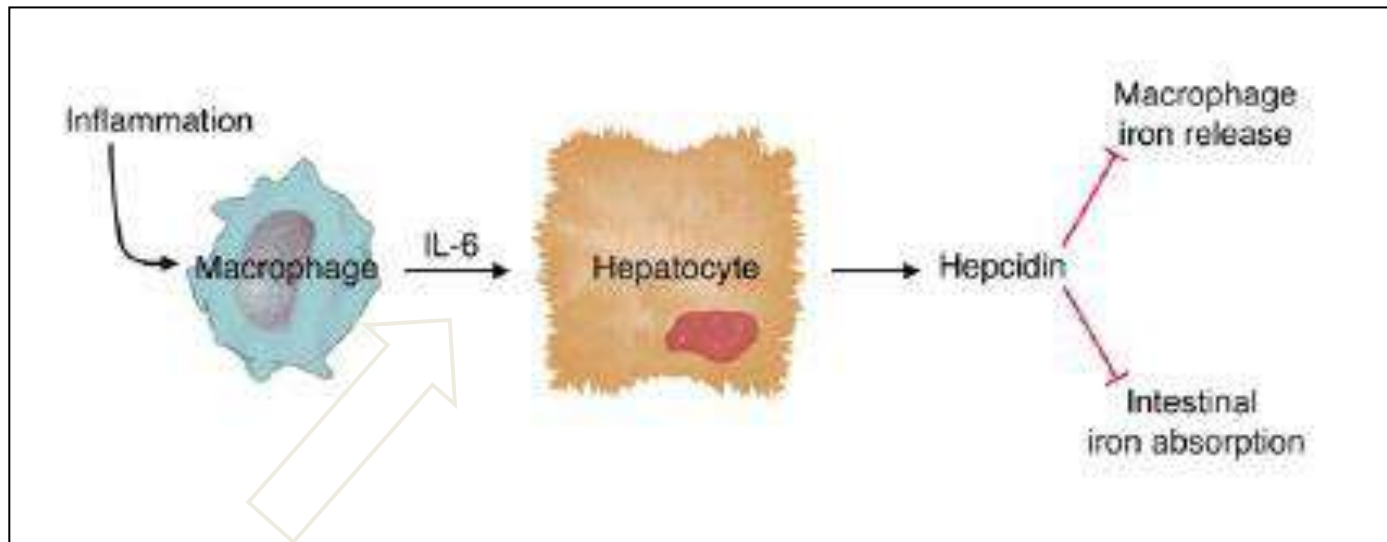
- a) Desequilíbrio do metabolismo do ferro;**
- b) Encurtamento da sobrevida dos eritrócitos;**
- c) Inibição da hematopoese;**
(↓ eritropoetina)

Fatores Fisiopatológicos - Distúrbio do metabolismo do ferro

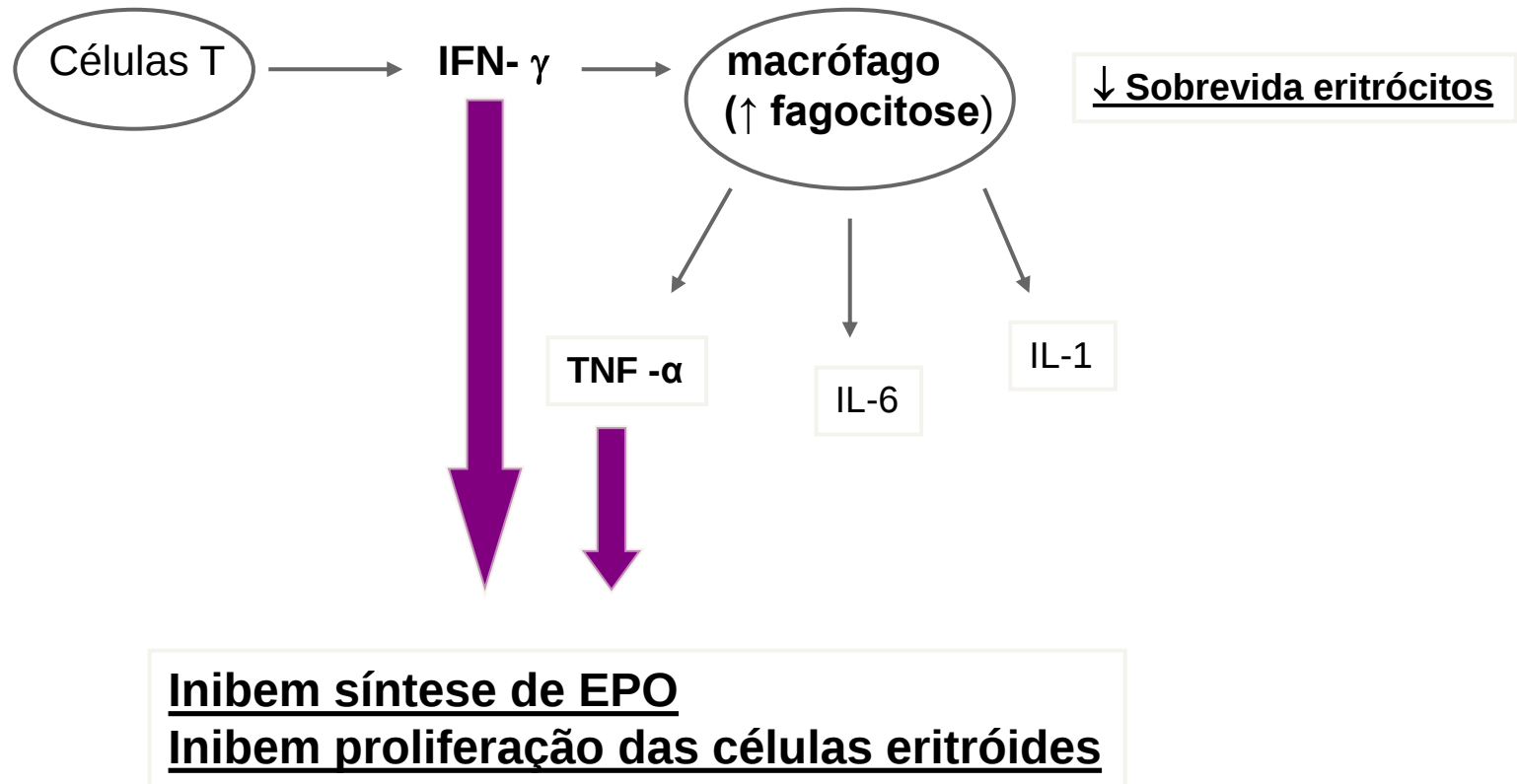


IL-1 → desgranulação → lactoferrina → estoque

Fatores Fisiopatológicos – Distúrbio do metabolismo do ferro



Fatores Fisiopatológicos – Inibição da hematopoese



ADC – Quadro laboratorial

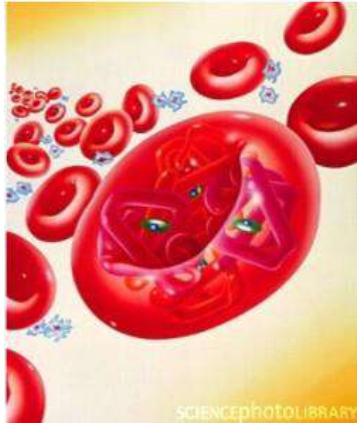
Provas auxiliares

- **ferro sérico: diminuído**
- **saturação de transferrina : diminuída**
- **ferritina sérica: aumentada**
- **receptores de transferrina : normal**



Hemoglobinopatias

Classificação Fisiopatológica das Anemias



Hipocrômica/microcítica

- desordem no metabolismo do ferro: anemia por deficiência de ferro
anemia das doenças crônicas
- desordem na síntese de globina: **talassemias**
hemoglobinas variantes
- desordem na síntese do heme e porfirinas: anemia sideroblástica

Hemoglobinopatias - classificação



Hemoglobinopatias

Hb Variantes

Alteração estrutural –
substituição de aas. –
defeito qualitativo

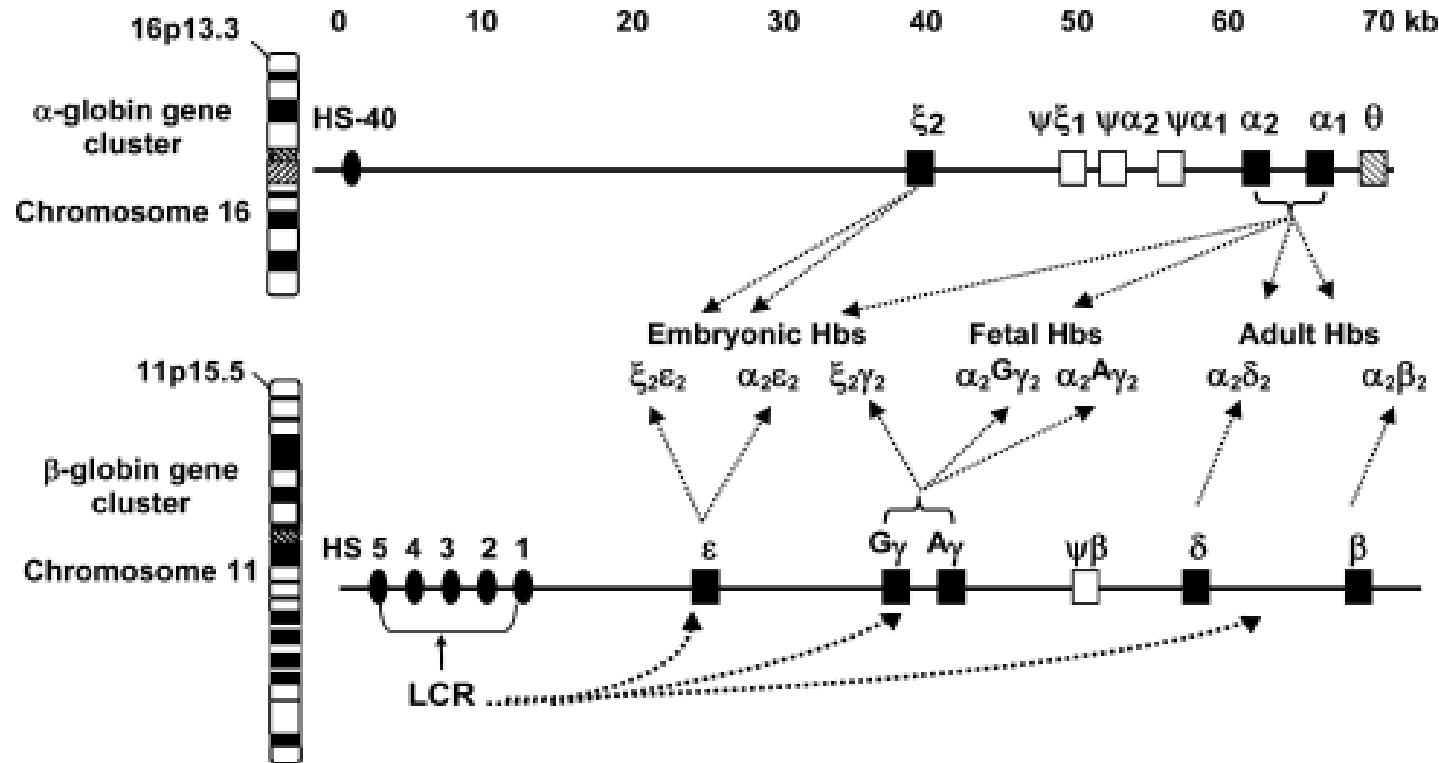
Hb S – Hb C – Hb D – Hb E ...

Talassemias

Mutações/deleções –
expressão dos genes –
defeito quantitativo

β -talassemias e α -talassemias

Gene das Globinas



Hb Gower 1 (ξ₂ ε₂)

Hb Gower 2 (α₂ ε₂)

Portland (ξ₂ γ₂)

Hb A (α₂ β₂) – 96 a 98%

Hb A₂ (α₂ δ₂) – 2,5 a 3,5%

Hb F (α₂ γ₂) – 0 a 1%

Ontogenia das Globinas

Período Embrionário (até 4 meses-IU)

$\zeta 2\varepsilon 2$ - Hb Gower 1	20- 40%
$\alpha 2\varepsilon 2$ - Hb Gower 2	10- 20%
$\zeta 2\gamma 2$ - Hb Portland	5- 20 %
$\alpha 2\gamma 2$ -Hb Fetal	5- 40%

Período Fetal (até 6 meses de idade)

→ $\alpha 2\gamma 2$ - Hb Fetal	90-100%
$\alpha 2\beta 2$ - Hb A	0- 10%
$\alpha 2\delta 2$ - Hb A2	0- 1%

Período Pós-Nascimento (após 6 meses)

→ $\alpha 2\beta 2$ - Hb A	96 - 98 %
$\alpha 2\delta 2$ - Hb A2	2- 4%
$\alpha 2\gamma 2$ - Hb Fetal	0- 1%

Fisiopatologia das α -talassemias



α -Talassemia:

- Síntese não balanceada das cadeias α -globínicas
- Feto $\rightarrow$ **excesso cadeias γ** $\rightarrow \gamma_4$ (Hb Bart) $\rightarrow$ alta afinidade com $O_2 \rightarrow$ hipóxia tecidual Hb F ($\alpha_2 \gamma_2$) – 0 a 1%
- Adulto $\rightarrow$ **excesso cadeias β** $\rightarrow \beta_4$ (Hb H) $\rightarrow$ instável (corpos de Hb H) = hemólise + alta afinidade com O_2 Hb A ($\alpha_2 \beta_2$) – 96 a 98%

Diagnóstico laboratorial das α -talassemias



Eletroforese de hemoglobina alcalina
Pesquisa de Hb H
Eritrograma
HPLC

Metodologia
clássica

Análises moleculares – PCR
Pesquisas das principais para deleções $\alpha 3.7$ e $\alpha 4.2$

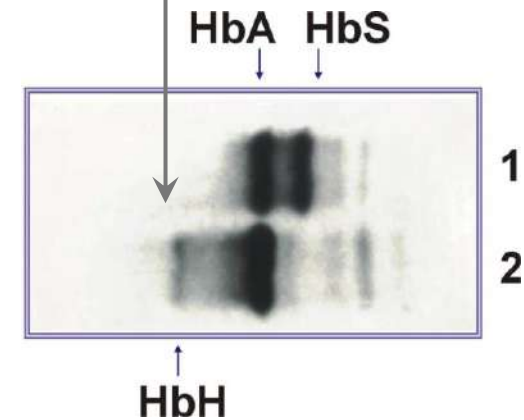
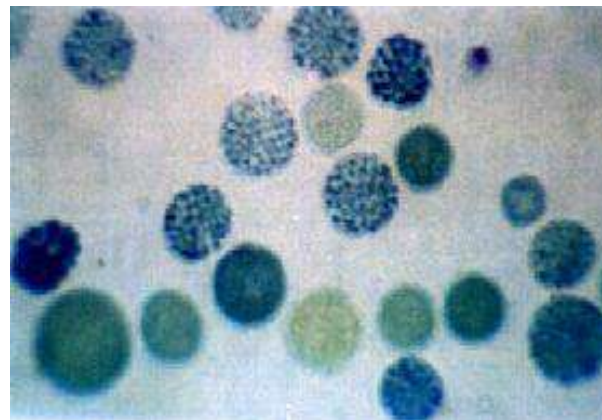
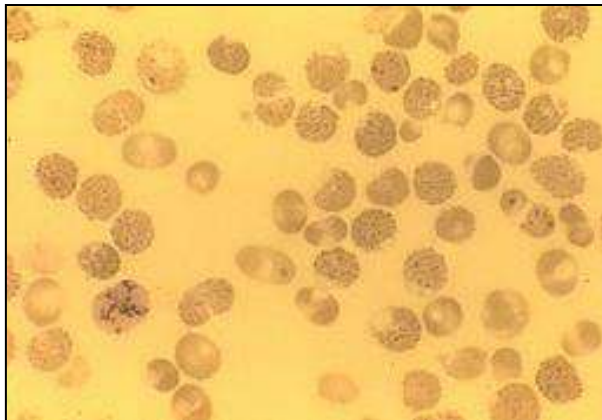
Metodologia
complementar

Fisiopatologia das α -talassemias

Excesso β

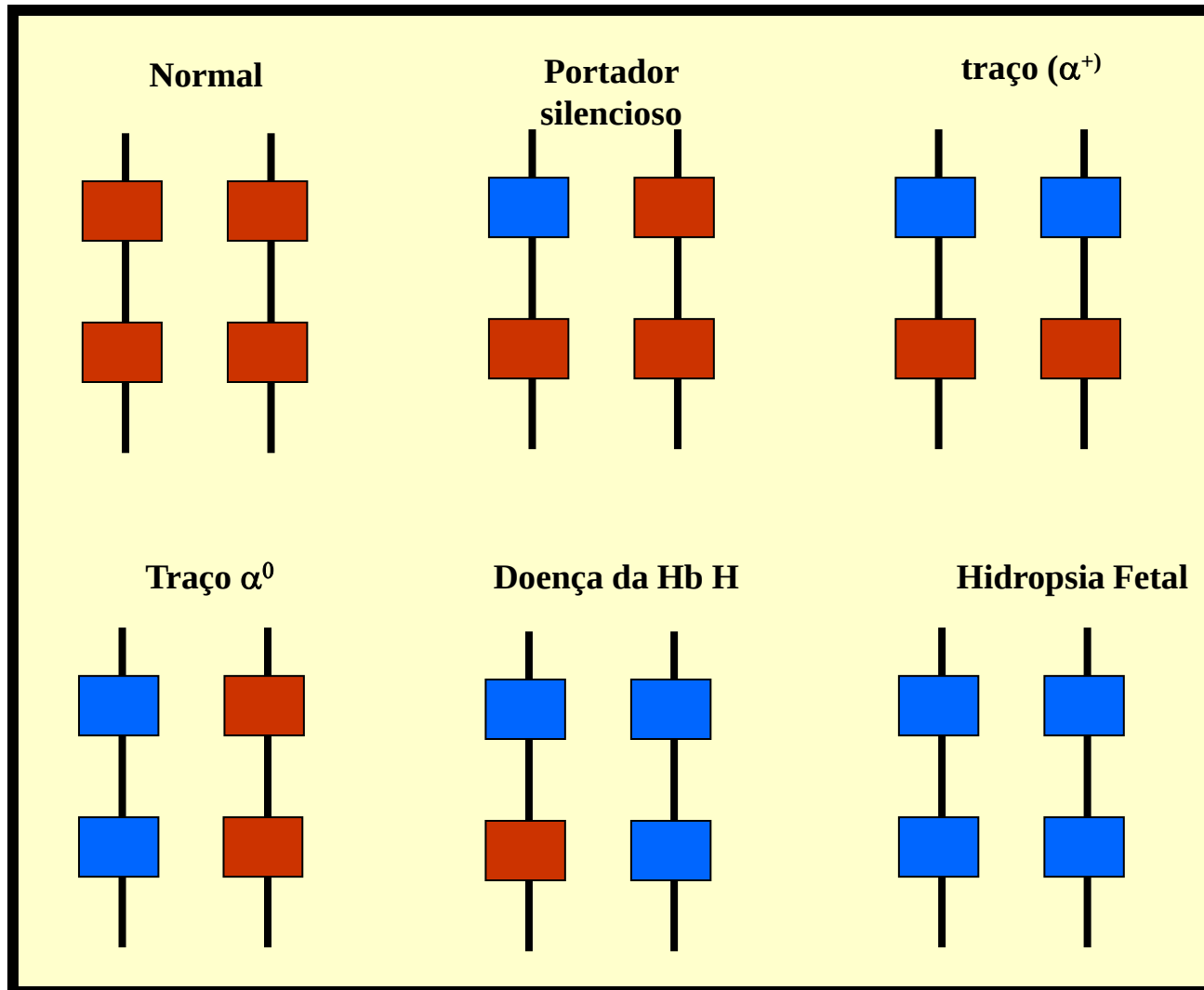


→ Tetrâmeros → **HbH**



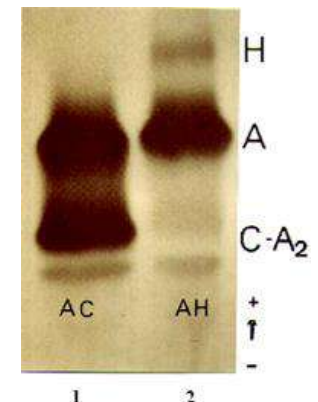
Corpos de Hb H (β_4)

Genótipo das α -talassemias

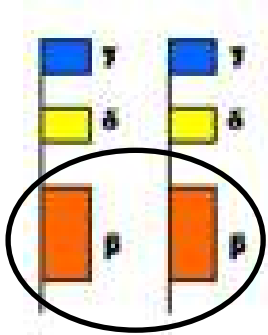


α^+ talassemia – perda ou mutação que inativa total ou parcial apenas um dos locis

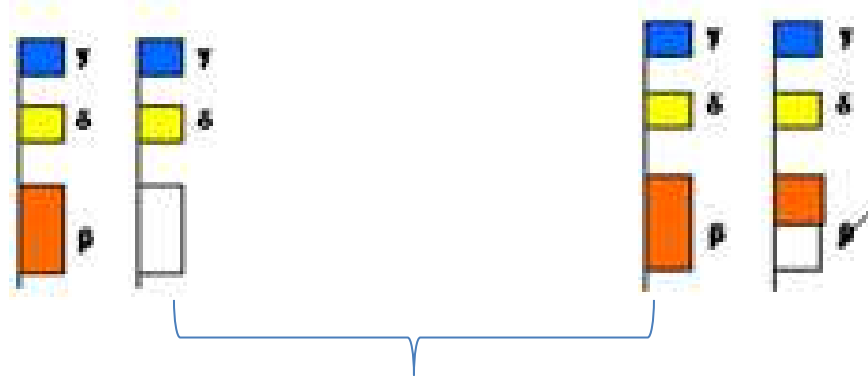
α^0 talassemia – nenhuma cadeia α é produzida por ambos os locis de globina



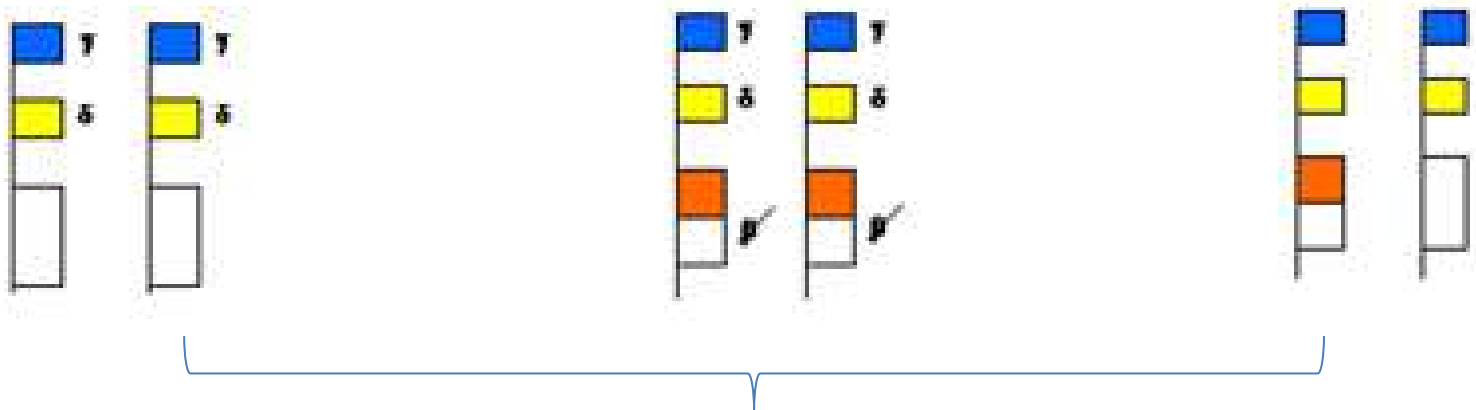
Genótipo das β -talassemias



Herança normal



Falha total ou parcial em um gene β (Tal. Menor)



Falha total ou parcial nos dois genes β (Tal. Maior)

Diagnóstico laboratorial das β -talassemias



Eletroforese de hemoglobina alcalina
Eletroforese de hemoglobina ácida
Dosagem de Hb A₂
Morfologia eritrocitária
HPLC

Metodologia
clássica

Sequenciamento gênico – mutações gênicas

Metodologia
complementar

β -talassemias

Microcitose/hipocromia

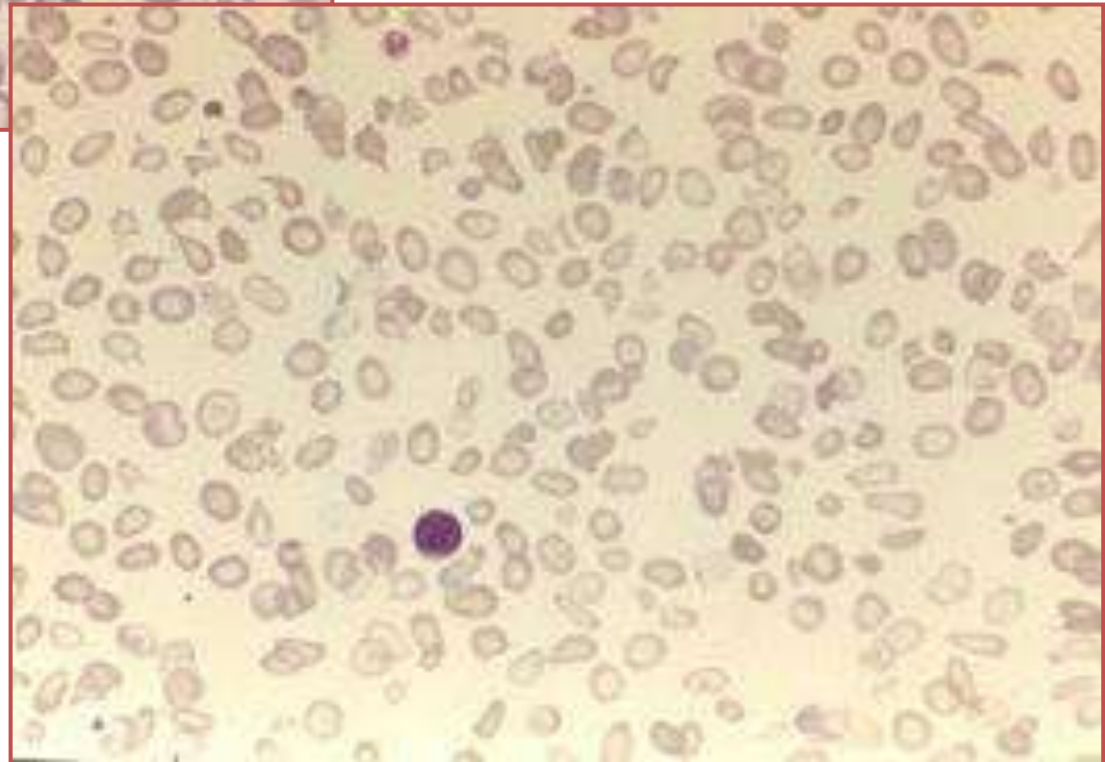
Hb normal/ ↓

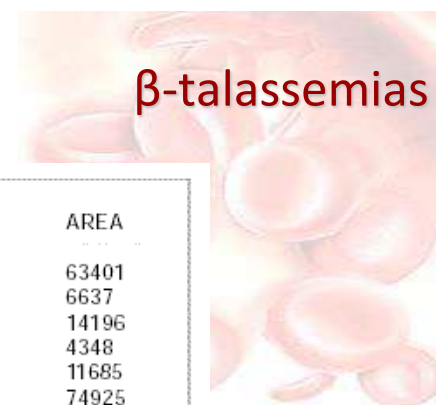
RDW normal/ ↑

Eritroblastos

Reticulocitose

Poiquilocitose (dacriócitos e hemácias em alvo)





HPLC

Cromatografia líquida de alta pressão

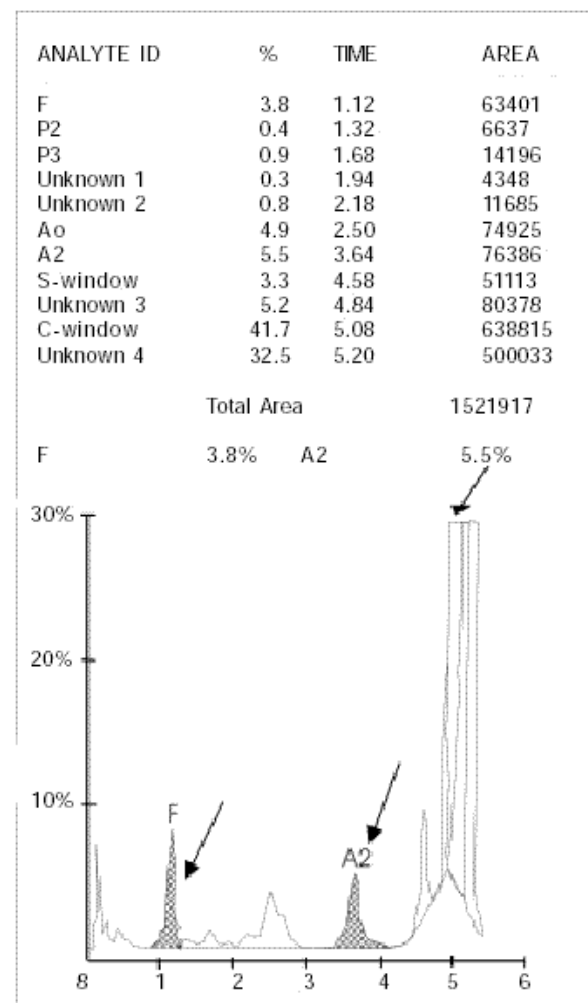
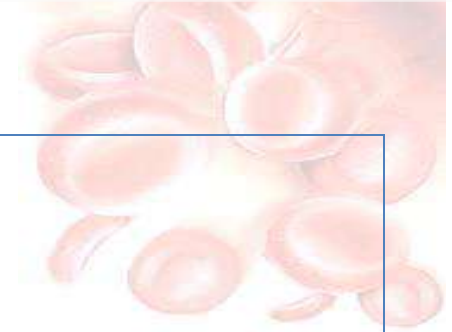


Fig. 4 – Perfil cromatográfico observado na amostra da paciente por HPLC com equipamento VARIANT-BIO-RAD, e kit de diagnóstico para betatalassemia, evidenciando picos na janela de Hb C e os valores de Hb A2 e F

Talassemias



■ **Prevenção:**

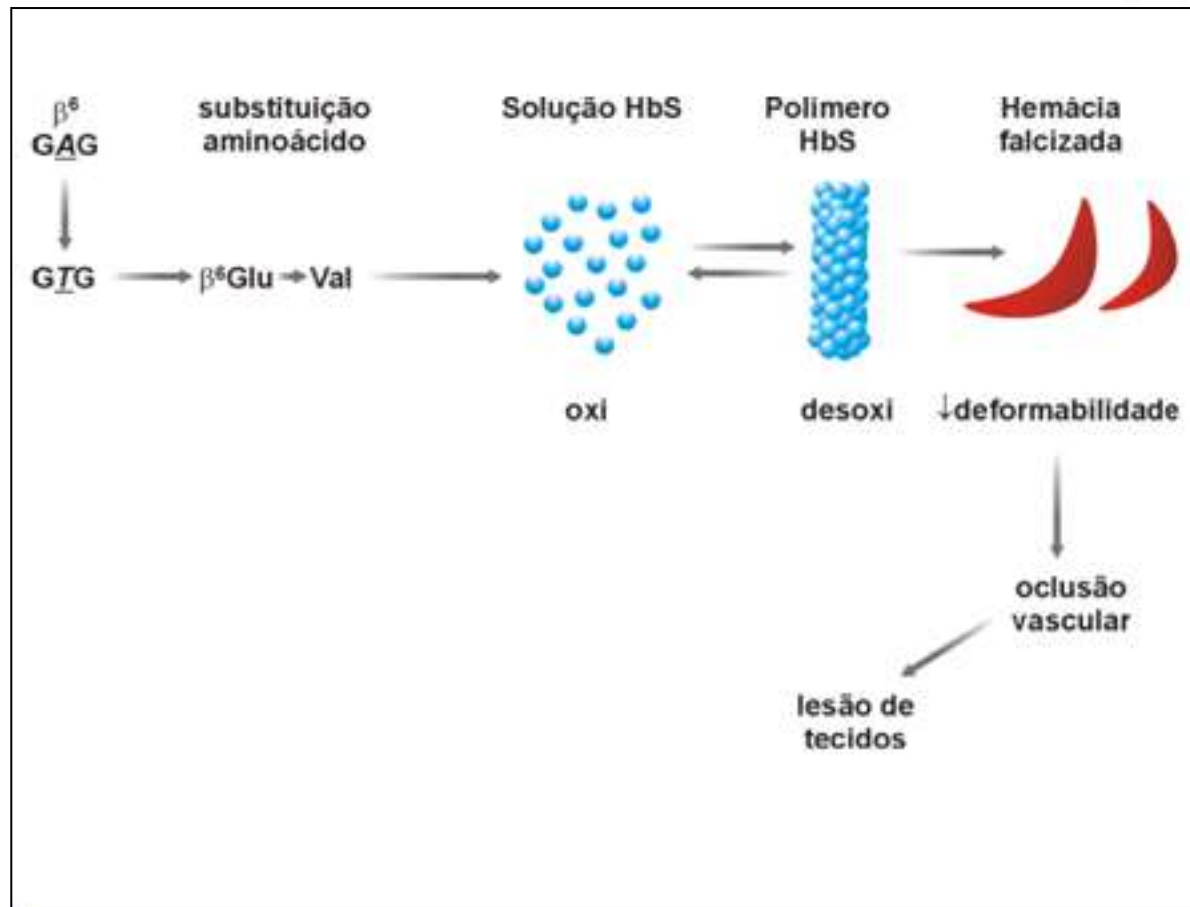
- estudos genéticos prospectivos
- diagnóstico pré-natal

■ **Tratamento:**

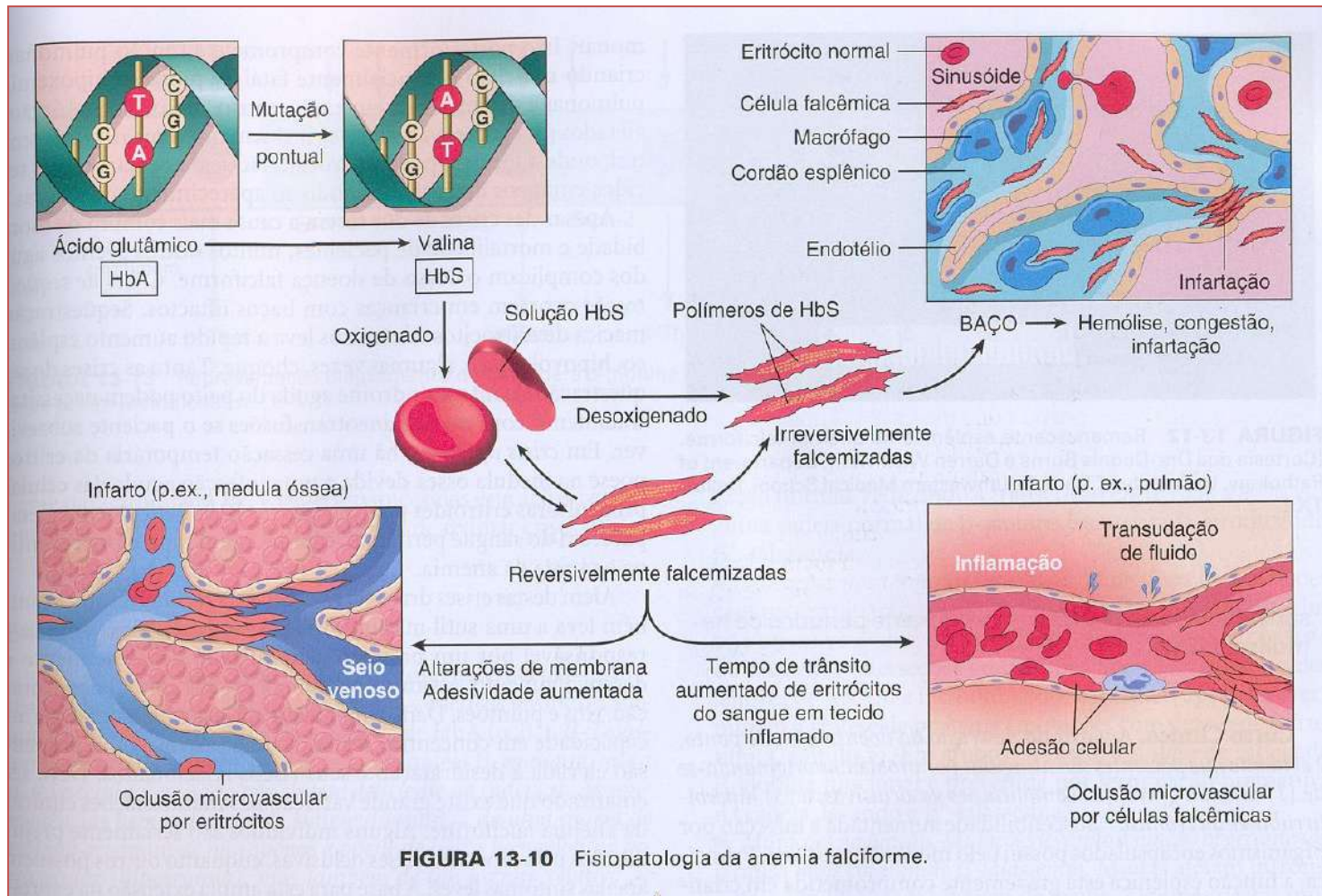
- transfusões sanguíneas regulares
- terapia quelante de ferro (desferrioxamina)
- bom padrão de acompanhamento pediátrico
- transplante de medula óssea

Anemia Falciforme

Alteração molecular: mutação pontual de uma base no codon 6 do gene da cadeia β

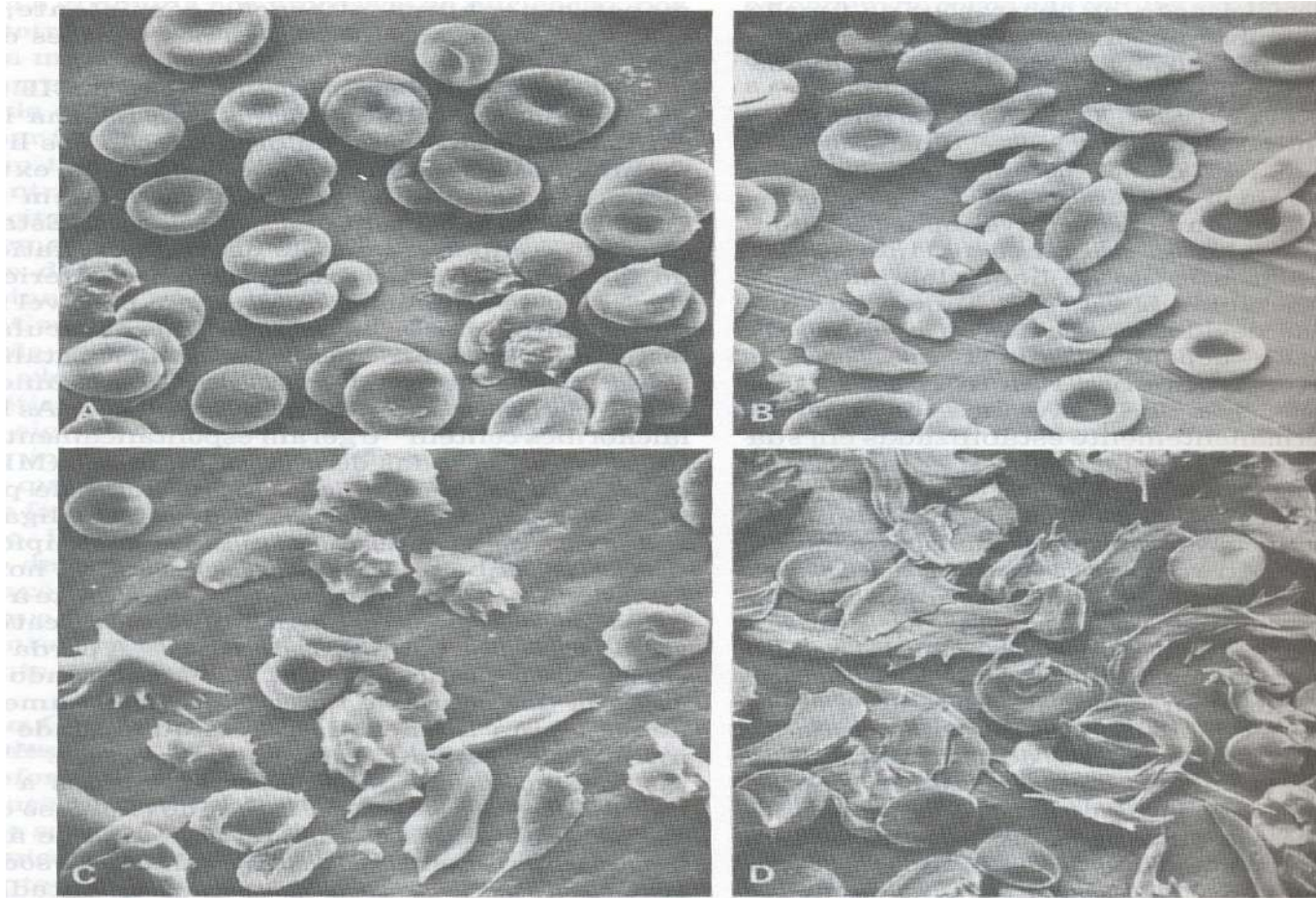


Anemia Falciforme



HEMÓLISE E OCLUSÃO VASCULAR

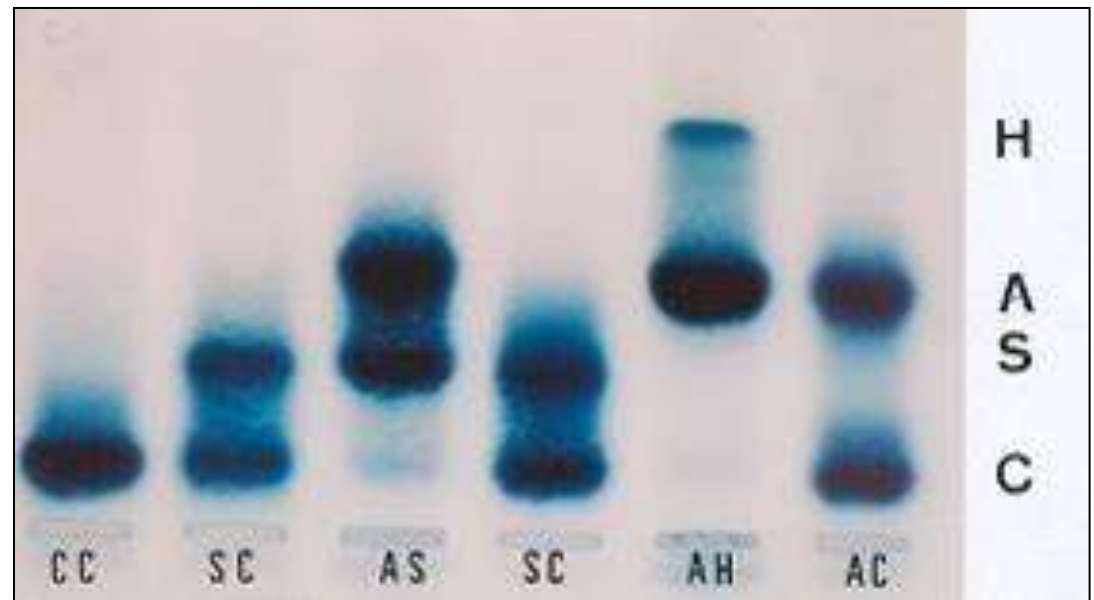
Anemia Falciforme



Teste de Falcização – indução da falcização pela desoxigenação da Hb.

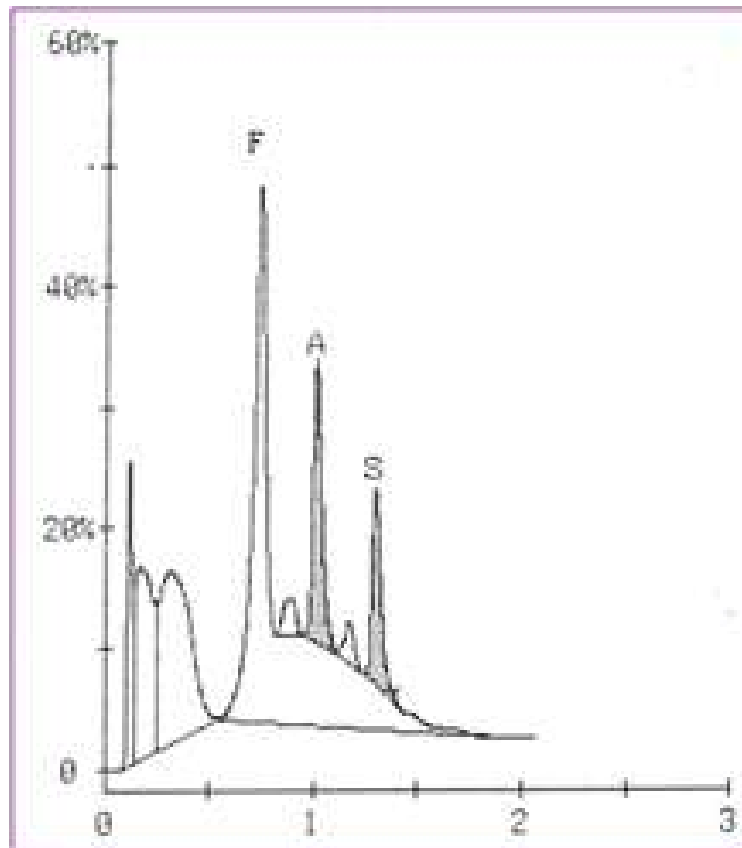
Anemia Falciforme - Características laboratoriais

Eletroforese de Hemoglobina



Anemia Falciforme - Características laboratoriais

HPLC – traço falcêmico

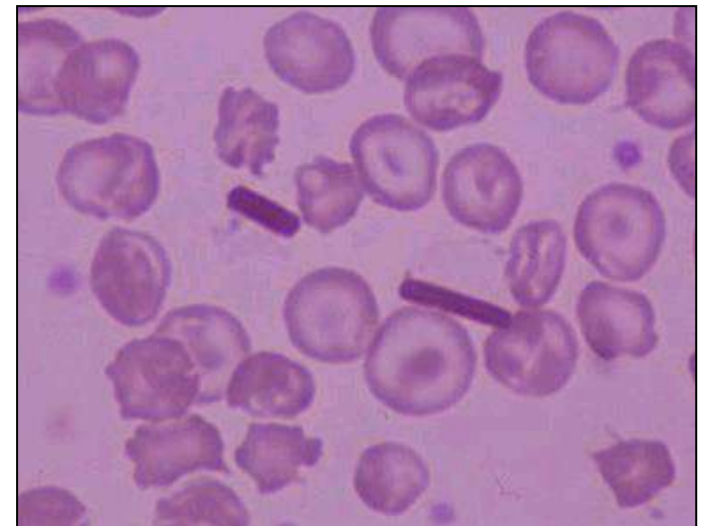
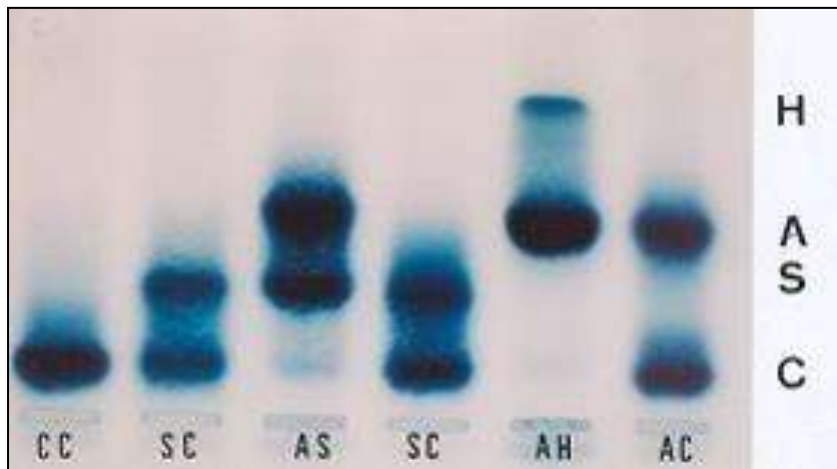


Hb C

Hb C $\alpha_2\beta_2$ (6 Glu $\rightarrow$ Lis)

Heterozigotos: assintomáticos;
células em alvo :10-30%

Homozigotos: anemia moderada, esplenomegalia,
icterícia, células em alvo: até 100%;



Anemias normocíticas normocrômicas

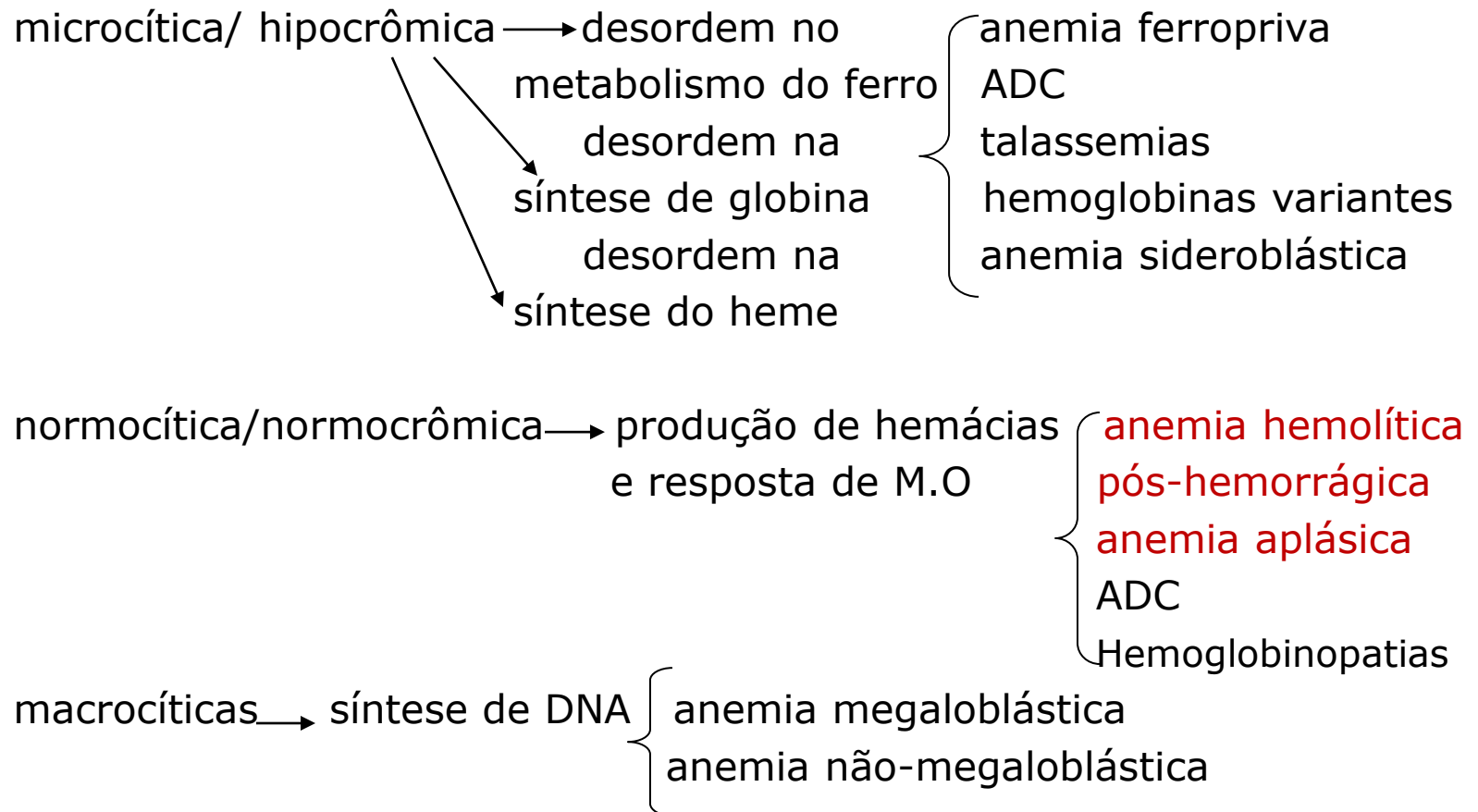
Anemias Hemolíticas

Classificação morfológica das anemias

Índices Hematimétricos (VCM, HCM, CHCM) e morfologia celular:

- ❖ Normocrômica/macrocítica;
- ❖ Hipocrômica/microcítica;
- ❖ Normocrômica/normocítica.

Anemias



Anemias normocrômicas e normocíticas

Classificação das anemias normocrômicas normocíticas **Pela fisiopatologia**

1 - Anemia com resposta da medula óssea diminuída

- a) Hipoplasia de MO
 - Anemia aplástica ou hipoplástica
- b) Desordens caracterizadas por infiltração da medula óssea
 - Leucemias, Mieloma, Tumores

2 - Anemia associada com produção de eritrócitos aumentada

- a) Anemia pós-hemorrágica
- b) Anemias hemolíticas

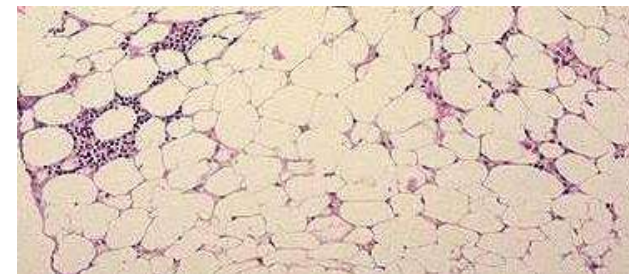
Anemia aplásica

(resposta diminuída MO)



Anemia aplásica

- Alteração na produção de hemácias e na resposta da MO (hipocelular).
- Característica dessa anemia: **pancitopenia** ($\downarrow$ GB, $\downarrow$ GV, $\downarrow$ Plaq.)
- **Causa:**
 - defeito da célula tronco;
 - problema no microambiente da MO;
 - doenças da MO (leucemia, mielodisplasia);
 - doenças infecciosas virais (tuberculose, HIV, hepatite);
 - doenças auto-imunes (Lupus);
 - deficiência de vitamina B₁₂ ou folato;
 - radiação.



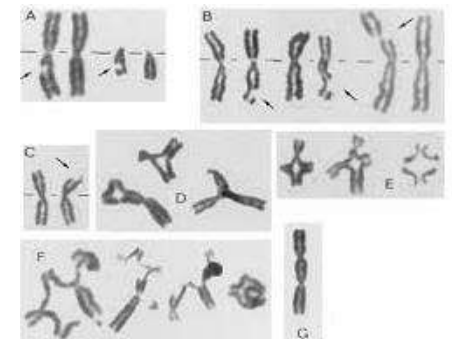
Anemia aplásica

Pode ser: **adquirida**

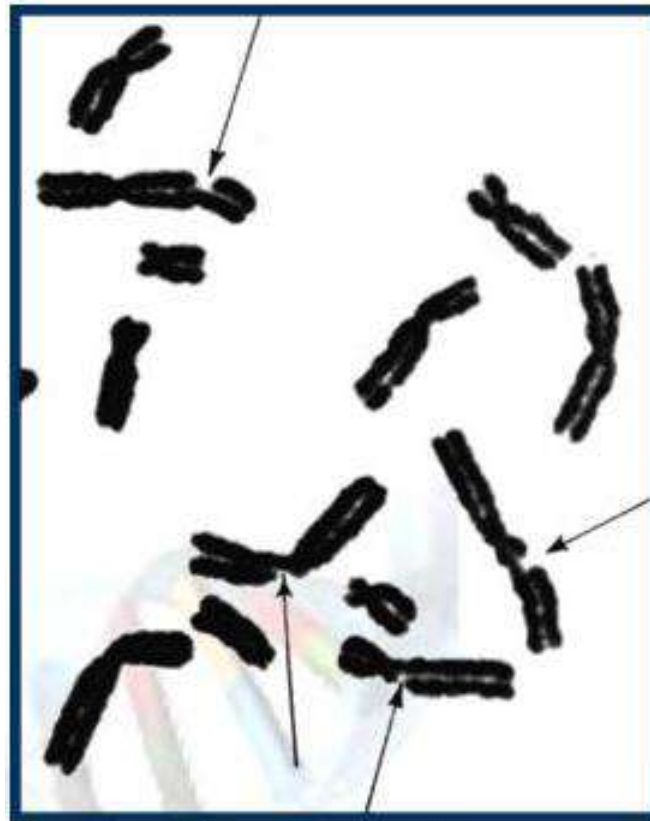
- Agentes que provocam aplasia:
 - radiação ionizante, benzeno, quimioterápicos
 - doenças infecciosas ou auto-imunes
 - drogas: penicilina, anticonvulsivantes

congenita (Anemia de Fanconi) ruptura de vários cromossomos
– célula tem dificuldade de reparar danos DNA - mutações.

- Idade: 5 a 10 anos



Anemia aplásica



Quebra Cromossômica

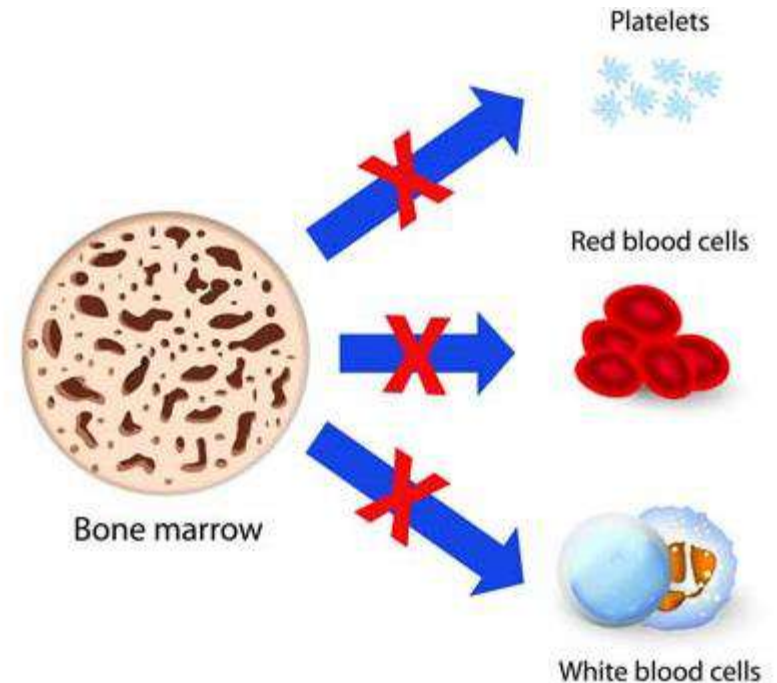
Anemia aplásica

Achados laboratoriais:

- GV, GB e plaquetas ↓
- Reticulócitos N/ ↓
- Hb = 7 g/dL
- Fe e ferritina N/↑
- TS ↑

Sintomas:

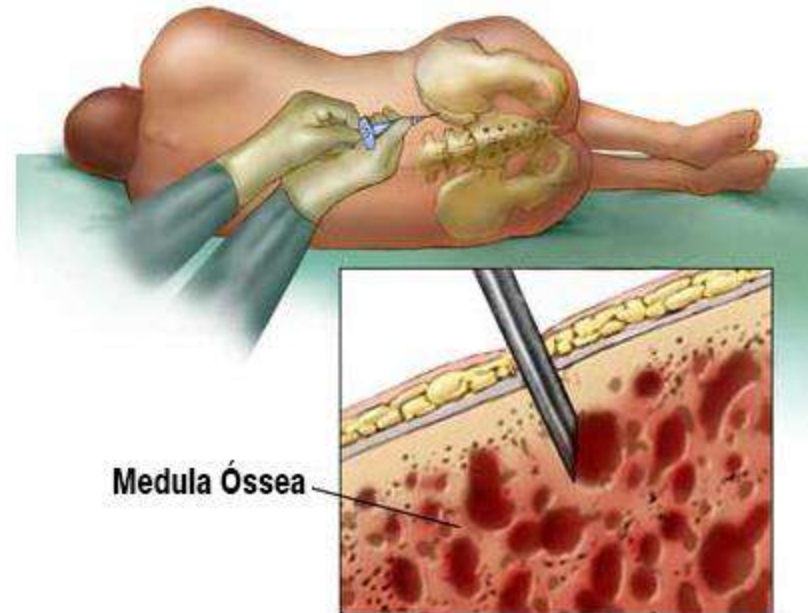
- sangramento
- Febre/infecções
- anemia



Anemia aplásica

Tratamento:

- transfusão de hemácias/plaquetas,
- esplenectomia,
- transplante MO.



- OBS: 70 % dos pacientes morrem em 5 anos.

Anemias Hemolíticas

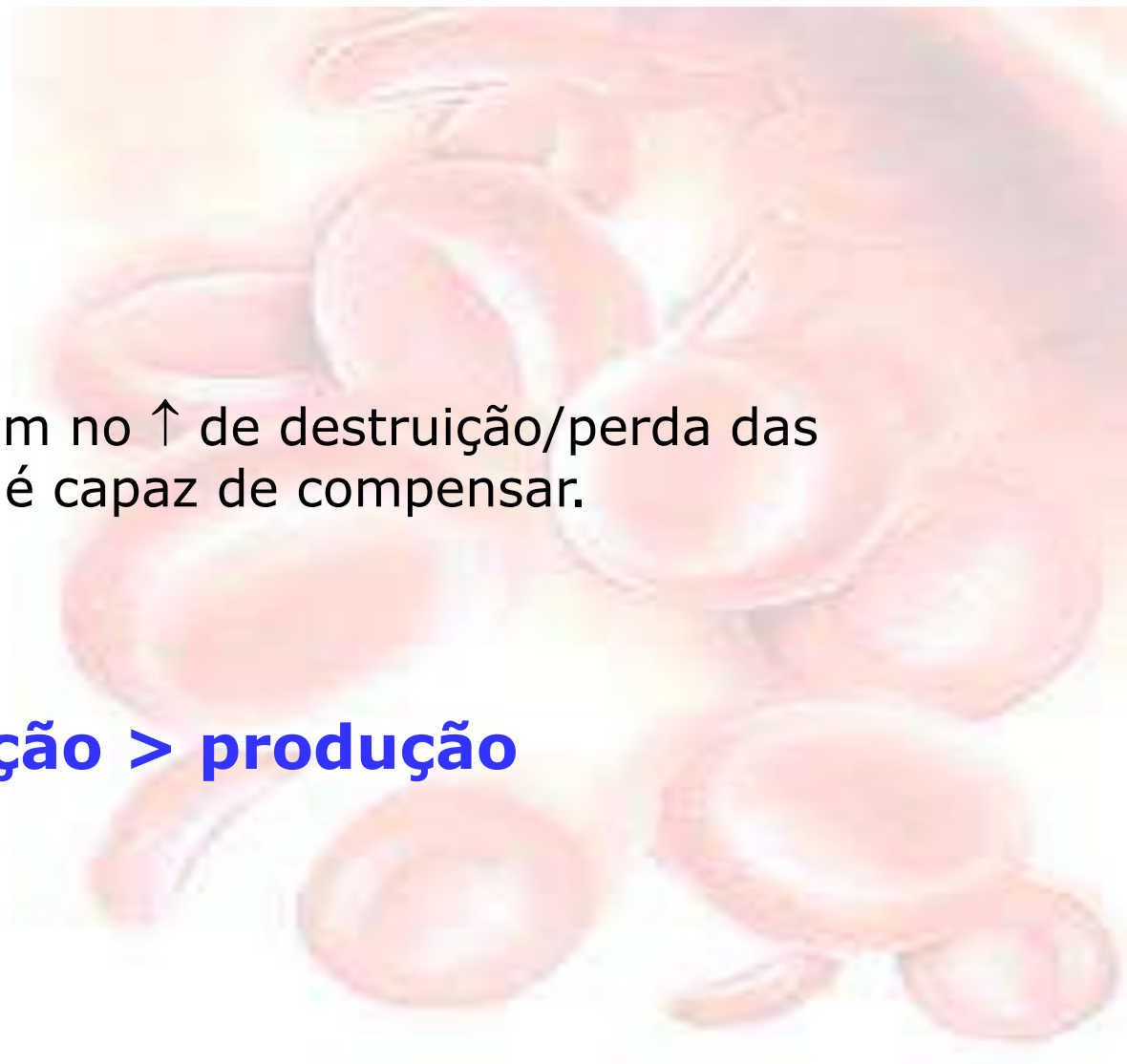


Anemias Hemolíticas

Definição:

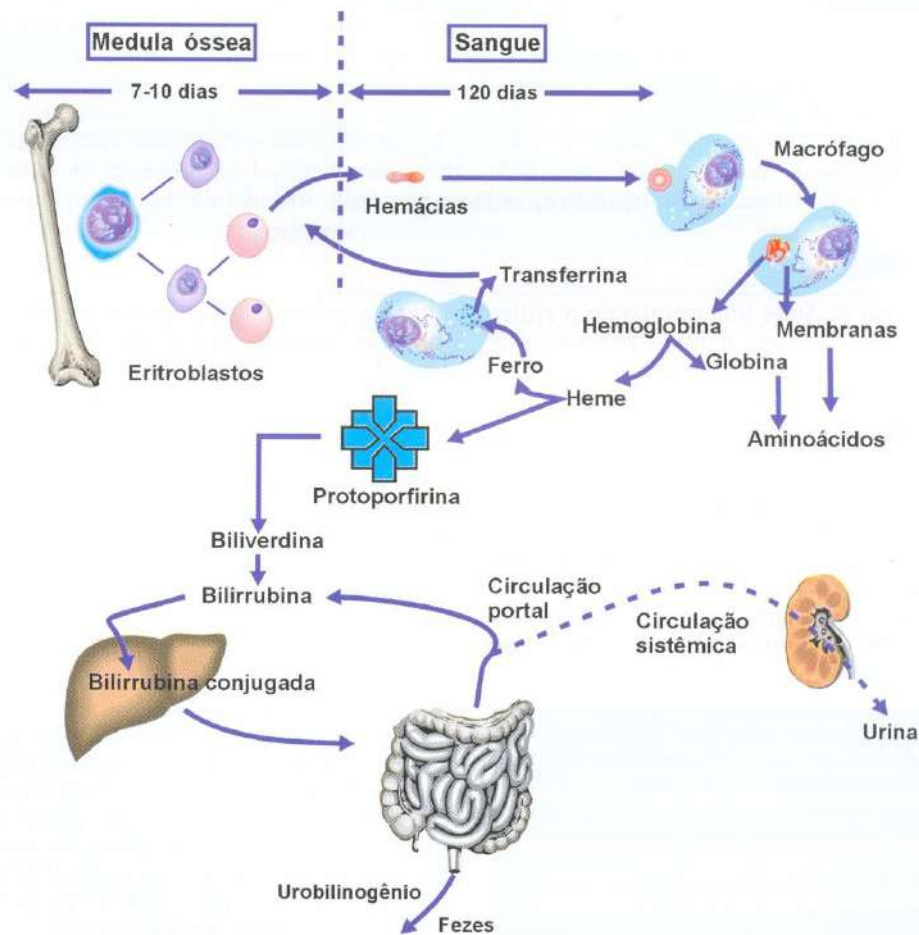
São anemias que resultam no $\uparrow$ de destruição/perda das hemácias e a MO não é capaz de compensar.

destruição > produção



Hemólise

Extravascular – sistema retículo-endotelial (macrófagos)



Hemólise

Consequências da hemólise:

- Resposta medular: $\uparrow$ EPO – estímulo na produção de eritrócitos - $\uparrow$ reticulócitos;
- $\uparrow$ bilirrubina indireta (icterícia) e cálculos biliares (precipitação bilirrubina);
- Quando $\frac{1}{2}$ vida dos eritócitos $\downarrow\downarrow$ - anemia;
- Enzima lactato desidrogenase (DHL) $\uparrow$.

Anemias Hemolíticas

Classificação etiopatogênica:

Hemólise **congenita**:

a) defeitos na membrana dos eritrócitos:

- esferocitose hereditária;
- eliptocitose hereditária;
- estomatocitose hereditária.

b) deficiência de enzimas glicolíticas dos eritrócitos:

- glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PD);
- glutatión sintetase;
- piruvato quinase;

c) defeitos na estrutura e síntese de globina (hemoglobinopatias):

- talassemia maior;
- anemia falciforme.

Anemia Hemolítica

Classificação etiopatogênica:

Hemólise **adquirida**:

a) Anemia imuno-hemolíticas:

- hemólise auto-imune (AHAI);
- hemólise auto-imune por medicamentos;
- hemólise alo-imune (reação transfusional).

b) Anemia hemolítica microangiopática:

- Coagulação Intravascular Disseminada (CIVD);
- Púrpura trombocitopênica trombótica;
- Síndrome hemolítica urêmica

c) Anemias hemolíticas intravasculares:

- próteses cardíacas;
- lesão térmica (queimaduras);
- bactérias;
- envenenamentos.

Anemias Imuno-hemolíticas

Hemólise **adquirida**:

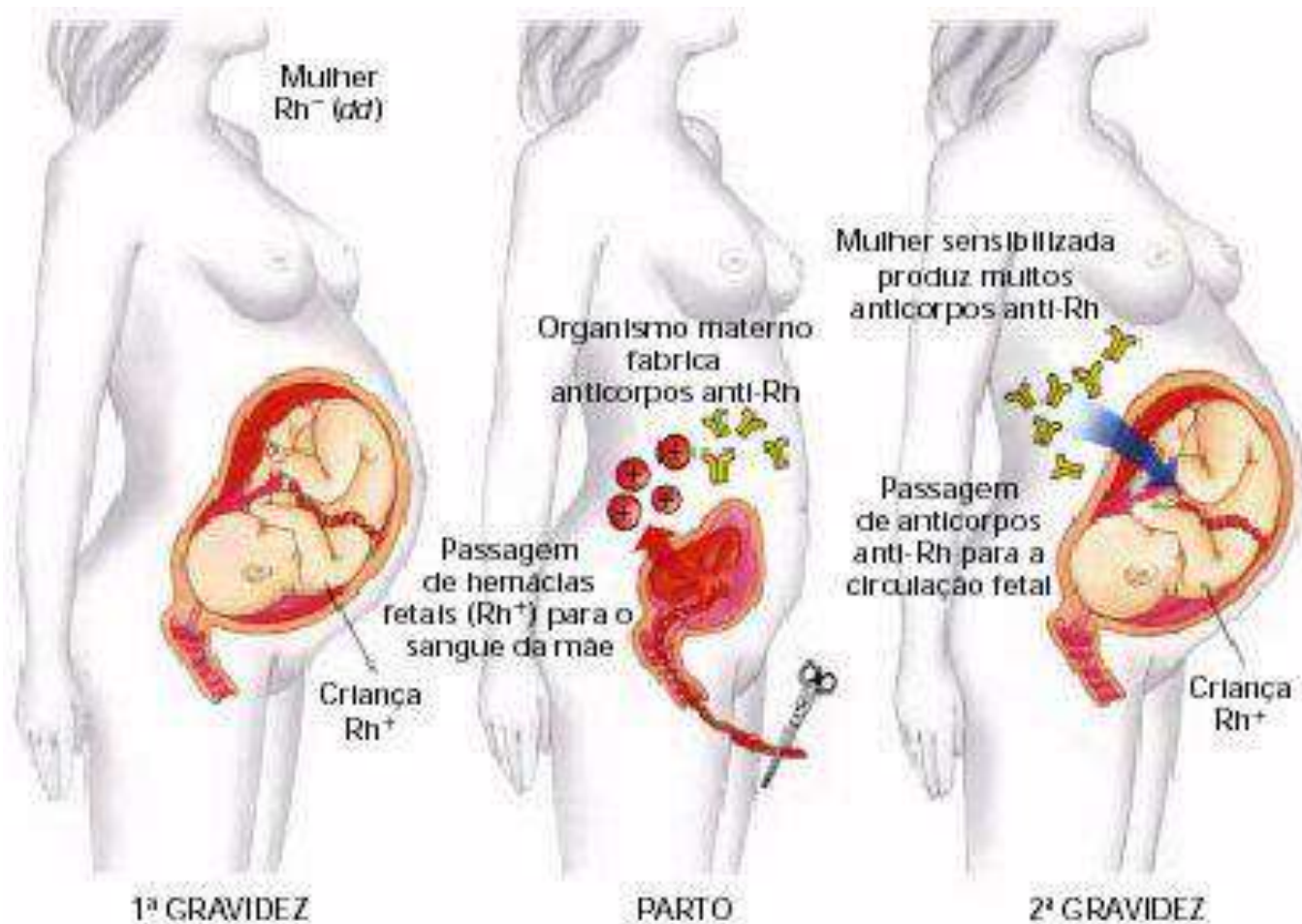
a) Anemias imuno-hemolíticas: **hemólise aloimune**

Aloanticorpos: reagem com um antígeno externo, não presente nos eritrócitos do paciente. Anticorpos produzidos contra antígenos que provêm de indivíduos geneticamente diferentes.

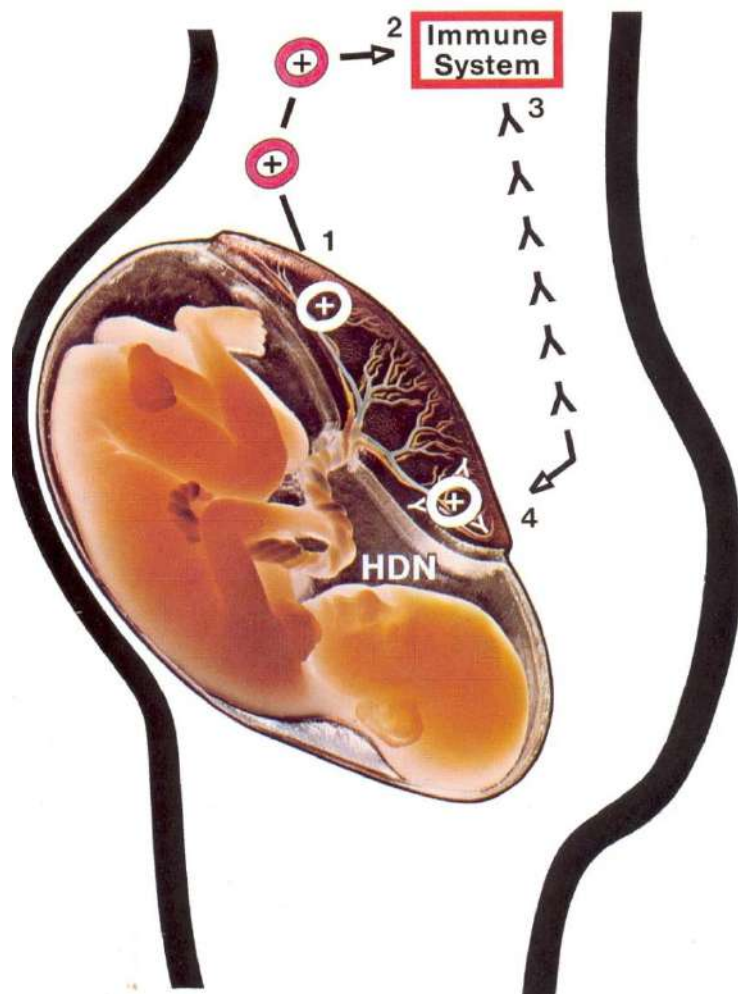
Ex: Mãe-Rh negativa imunizada com sangue Rh-positivo (IgM) -
Reações transfusionais

Anemias Imuno-hemolíticas

Hemólise aloimune



Anemias Imuno-hemolíticas



Produção de Ac (IgG) anti-D;
2ª gestação – Ac atravessa a
placenta e lisa hemácias;
Feto – anemia hemolítica grave.

Anemia Hemolítica

Achados laboratoriais:

- normocitose/normocromia;
- reticulócitos N/ $\uparrow$;
- policromatofilia;
- RDW $\uparrow$;
- poiquilocitose: esquizócitos/esferócitos; etc...
- Corpúsculos: Howell-jolly; etc...
- bilirrubina indireta $\uparrow$;
- icterícia;
- eritroblastos;
- Coombs direto: positivo

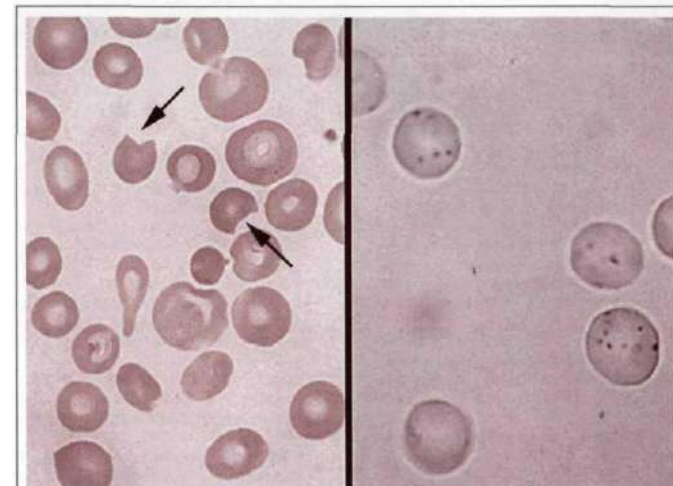
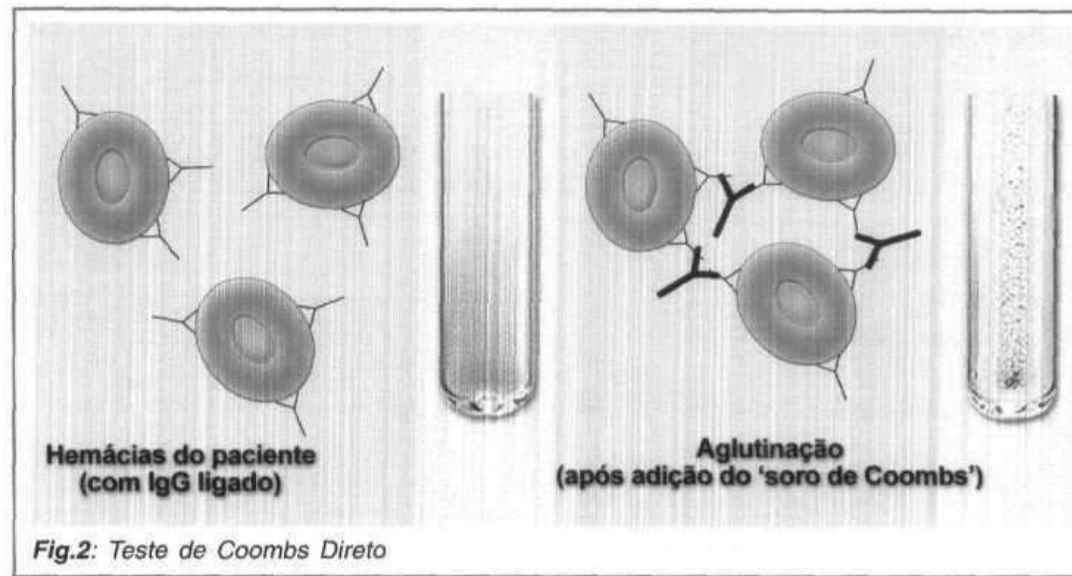


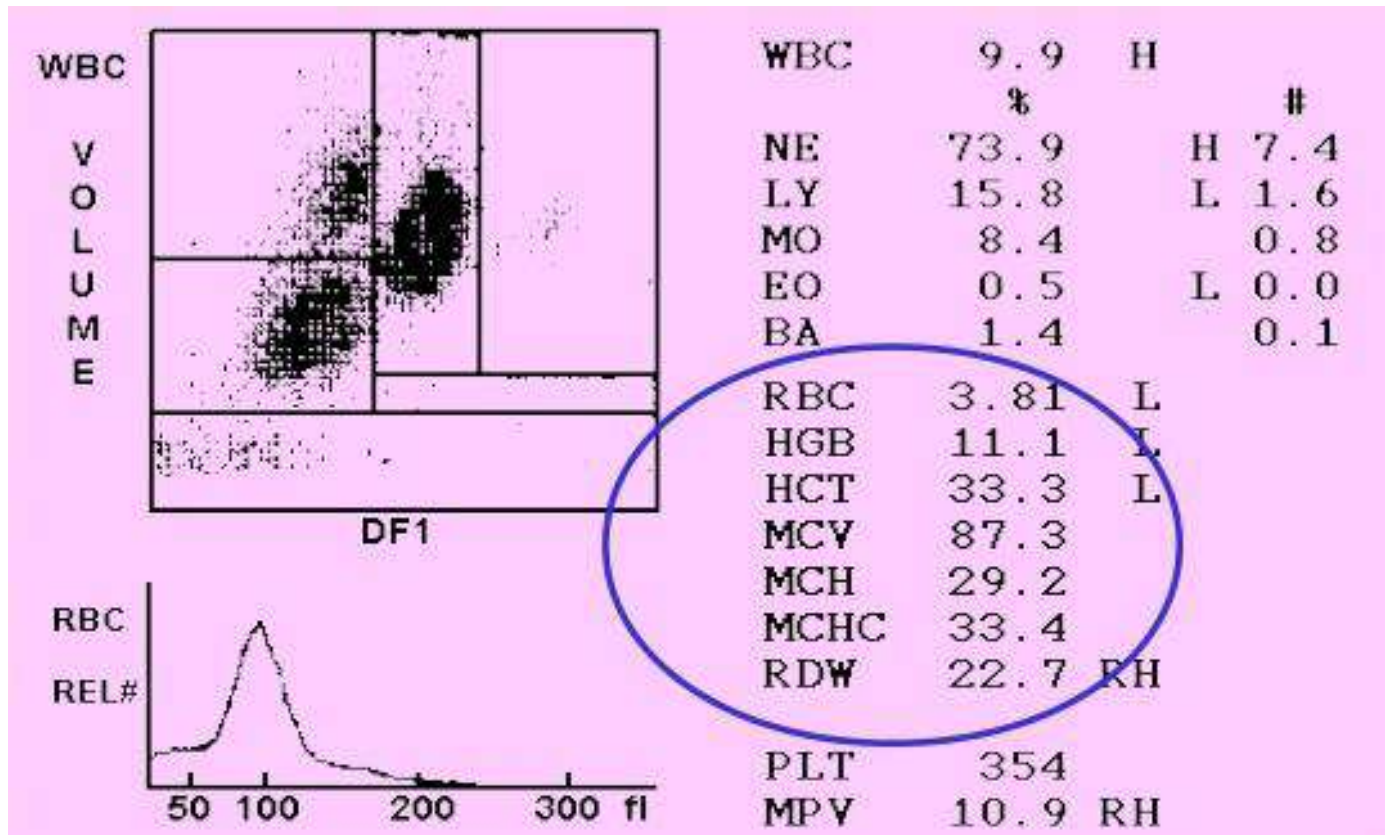
Fig.5: À esquerda: hemácias "mordidas" ou 'irregularmente contraídas'. À direita: corpúsculos de Heinz na coloração supra-vital.

Anemia Hemolítica

Teste de Coombs direto– evidencia os Ac contra os Ag de hemácias



Anemia Hemolítica





Caso clínico

- 1) Paciente do sexo masculino, 70 anos, apresentou-se pálido e com fraqueza. Foi solicitado um **eritrograma**, cujo resultado foi:

GV: 3.81 milhões/mm³ (↓)

Hb: 11.1 g/dL (↓)

Ht: 33.3% (↓)

VCM:

HCM:

CHCM:

RDW: 18.2% (↑)

OBS:

Calcule os índices hematimétricos e descreva a possível observação do esfregaço sanguíneo.

Exercícios

1. Uma mulher de 62 anos, portadora de Artrite Reumatoide há 10 anos, procura atendimento relatando cansaço progressivo, fraqueza e dificuldade para realizar atividades habituais. Ela refere que os sintomas começaram há alguns meses e vêm piorando lentamente. Nega sangramentos recentes.

No exame físico, apresenta palidez cutaneomucosa leve. Foi solicitado um eritrograma.

Como estaria os resultados dessa paciente nesse caso específico? Por quê?

R:

2. Calcule os índices hematimétricos. Libere a observação do eritrograma.

GV= 3,6 milhões/mm³

Hb=10,2 g/dL

Ht=31%

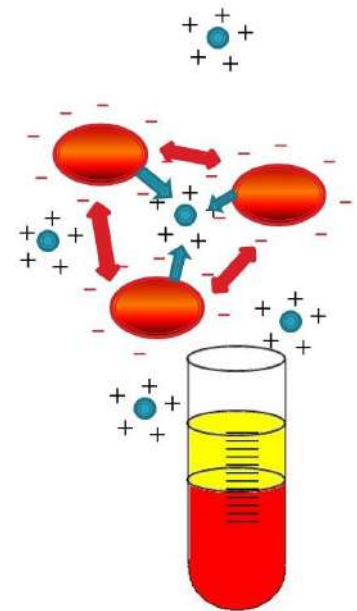
RDW=N

R:

Velocidade de Hemossedimentação VHS

Velocidade de hemossedimentação

Marcador de resposta inflamatória – criado: 1897/padronizado: 1973
Pouco específico – não faz diagnóstico de doenças específicas



Técnica de Westergren

VHS – mede quanto de GV se depositou em um determinado tempo e volume (1 e 2h)

Princípio: as hemácias apresentam **carga negativa**. Assim uma repele a outra, vão se depositando por conta da gravidade, lentamente. (Potencial zeta)
Plasma com muitas substâncias de carga positiva – a repulsão das hemácias vão diminuir, vai ocorrer maior agregação/empilhamento, aumentando o peso das moléculas, se depositando mais rapidamente.
Fibrinogênio, albumina, globulinas, ... são ótimos agregantes.



Proporção 1:5
4 partes de sangue
1 parte de citrato de Na



Posição: vertical
Pipetas: 200 mm
por 2,5 mm de diâmetro.

Velocidade de hemossedimentação

Cuidados no procedimento:

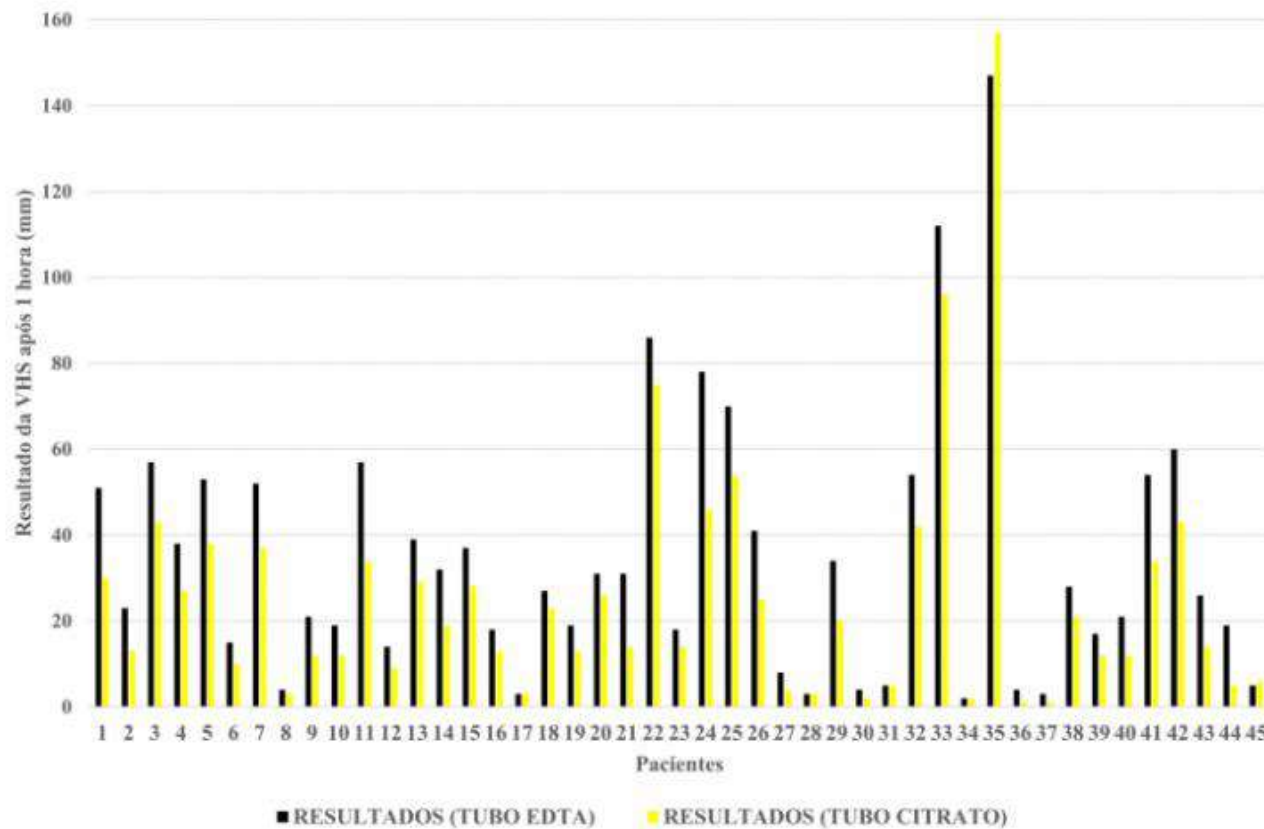
- ✓ Anticoagulantes (citrato de Na)
 - ✓ Anticoagulante (EDTA) – diluir 1:5;
 - ✓ Tempo de realização do exame – até 2 hora após a coleta;
 - ✓ Local isento de vibrações;
 - ✓ Temperatura – 20 a 25°C .
- Precipitação com EDTA é mais rápida

Utilidade clínica:

- ✓ Baixo custo;
- ✓ Validado;
- ✓ Rápido;
- ✓ Simples.



Velocidade de hemossedimentação



Velocidade de hemossedimentação

Doenças que aumentam VHS:

- Inflamações / infecções
- Insuficiência renal crônica
- Doenças auto-imunes (AR, Lupus)
- Diabetes
- Síndrome nefrótica
- Mieloma múltiplo / neoplasias



Doenças que “diminuem” VHS:

- Policitemia
- Hipofibrinogeniemia
- Hipoproteinemia

Velocidade de hemossedimentação

Técnica de Westergren

Valores de Referência (mulheres):

-1ª hora: até 20 mm/h (< 50 anos)
até 30 mm/h (> 50 anos) **X**

Valores de Referência (homens):

-1ª hora: até 15 mm/h (< 50 anos)
até 20mm/h (> 50 anos) **X**

-2ª horas **(sem valor)**

Interferentes: poiquilocitose, anemia microcítica, anemia macrocítica

Em **idosos** o valor de VHS é maior devido o aumento de proteínas (fibrinogênio, haptoglobina).



Pode atingir 35 a 40 mm/h

Velocidade de hemossedimentação

Valores > 80 mm/h



Neoplasias/infecções graves

Exames laboratorias que podem acompanhar o VHS:

- Proteína C-reativa;
- Fibrinogênio;
- Ferritina;
- Dosagem de IL;
- Fator reumatóide.

DETERMINAÇÃO DO HEMATÓCRITO (Ht)

O hematócrito é o volume que os eritrócitos empacotados ocupam em um determinado volume de sangue. Sua determinação consiste na centrifugação do sangue, medindo-se a percentagem de glóbulos vermelhos na coluna sanguínea obtida.

Materiais

- 1- Tubos capilares de diâmetro uniforme, simples ou heparinizados.
- 2- Centrífuga para microhematócrito.
- 3- Cartão de leitura de hematócrito.

Técnica

- 1- Colher sangue capilar em tubo capilar heparinizado, ou encher um capilar simples com sangue venoso colhido com anticoagulante por uma das extremidades até que falte 1cm para encher o capilar.
- 2- Fechar a extremidade vazia do tubo fundindo o vidro com calor (bico de gás) evitando atingir a coluna de sangue ou massinha de modelar.
- 3- Colocar na centrífuga, com a extremidade fechada voltada para o círculo externo e centrifugar a 11.000 rpm durante 5 minutos.
- 4- Ler no gráfico (abaixo) a percentagem da coluna de glóbulos vermelhos.



Valores Normais

Sexo Masculino : **40-54%** ou 0,40-0,54 L/L
Sexo Feminino : **37-47%** ou 0,37-0,47 L/L

VELOCIDADE DE HEMOSSEDIMENTAÇÃO (VHS)

Princípio

A velocidade em que as hemácias sedimentam no tubo depende do volume, da forma e das proteínas do plasma. O VHS é influenciado por proteínas plasmáticas na seguinte escala comparativa: fibrinogênio, β -globulina, α e γ -globulinas e albumina. As proteínas plasmáticas se ligam a membrana celular eritrocítica, o que reduz o potencial zeta, neutralizando assim as cargas elétricas da membrana.

A formação de *rouleaux*, assim como as demais alterações de forma e tamanho das hemácias podem alterar o VHS.

Método de Westergren

O sangue venoso pode ser colhido em citrato de sódio a 3,2% ou em EDTA .

1. O sangue colhido deve ser pipetado em um tubo graduado (200 mm de comprimento e 2,5 mm de diâmetro interno) – pipeta de Westergren. O tubo deverá ser preenchido até a marca zero.
2. Colocar a pipeta de Westergren no suporte próprio e na posição vertical por 1 horas.
3. A leitura será realizada pela distância do menisco até o topo da coluna de hemácias, na primeira hora, expressa em mm/h.

Valores de referência

Recém nascido: < 2 mm/h

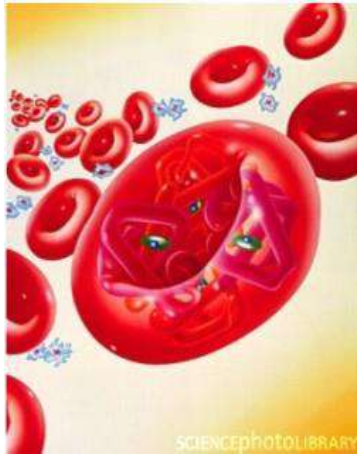
Mulheres: até 15 mm/h (1ª hora)

Homens: até 20 mm/h (1ª hora)

Obs: o VHS pode atingir até 40 mm/h em idosos saudáveis. Valores acima de 100 mm/h indicam doenças sistêmicas graves, como neoplasias, doenças auto-imunes e doenças crônicas graves.

Anemia Macrofítica

Classificação Morfológica das Anemias



Índices Hematimétricos (VCM, HCM, CHCM) e morfologia celular:

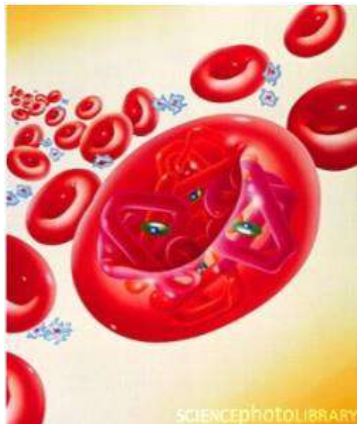
- ❖ Normocrômica/normocítica;
- ❖ Hipocrômica/microcítica;
- ❖ **Normocrômica/macrocítica.**



Diagnóstico preciso: conjunto de exames laboratoriais e clínicos



Classificação Morfológica das Anemias



Macrocíticas

- **Anemia Megaloblástica:** deficiência de vitamina B₁₂ (cobalamina);
deficiência de ácido fólico.

Anemia megaloblástica – deficiência de vitamina B12 (cobalamina)

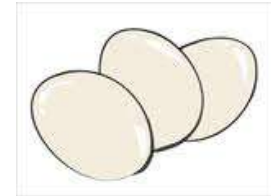
Ingestão insuficiente:
vegetarianos, lactantes de
mãe com anemia perniciosa



**Ingestão diária - adulto: 2,4 µg/dia;
- gestante: 3 µg/dia.**



Distúrbios gástricos:
anemia perniciosa
(anormalidade ou deficiência
do fator intrínseco), gastrite
atrófica, gastrectomia parcial
ou total.



Má absorção ileal:
diverticuloses,
diminuição da motilidade
intestinal, deficiência de
transcobalamina II



**Anemia Macrofítica –
Anemia Megaloblástica
(deficiência de vitamina B12)**

Drogas: omeprazol,
ranitidina, cimetidina –
↓ secreção gástrica

Anemia megaloblástica – deficiência de folatos (vit.B9)

Ingestão insuficiente:
dietas pobres em vegetais



**Ingestão diária - adulto: 300 µg/dia;
- gestante: 500 µg/dia.**



Aumento da demanda:
fisiológica – gravidez,
lactação, infância,
neoplasias, doenças
inflamatórias.



Má absorção jejunal:
espru tropical (anormalidade
no revestimento do intestino),
doenças infiltrativas
(tumor).

Multifatoriais: doença
hepática, HIV, sepse,
alcoolismo.



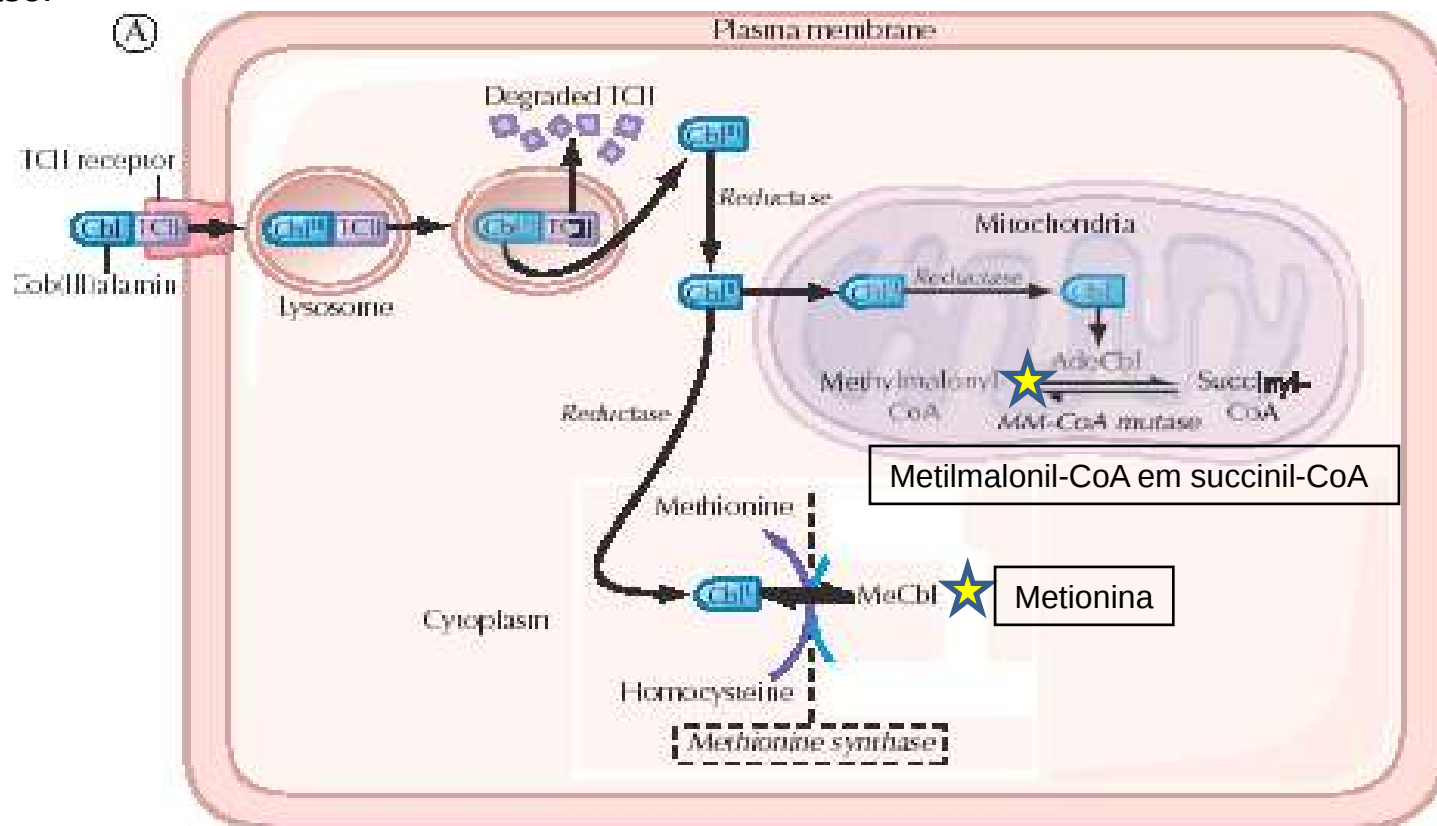
**Anemia Macrofítica –
Anemia Megaloblástica
(deficiência de folatos)**

Drogas:
anticonvulsivantes e
antibióticos

Fisiopatologia - Inter-relações metabólicas da vitamina B12 (cobalamina)

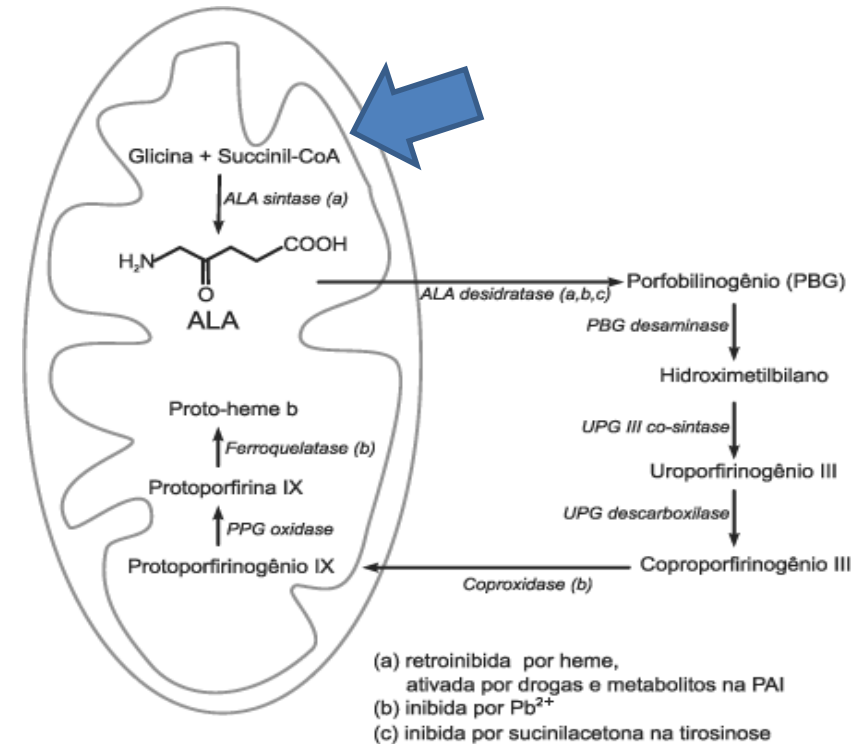
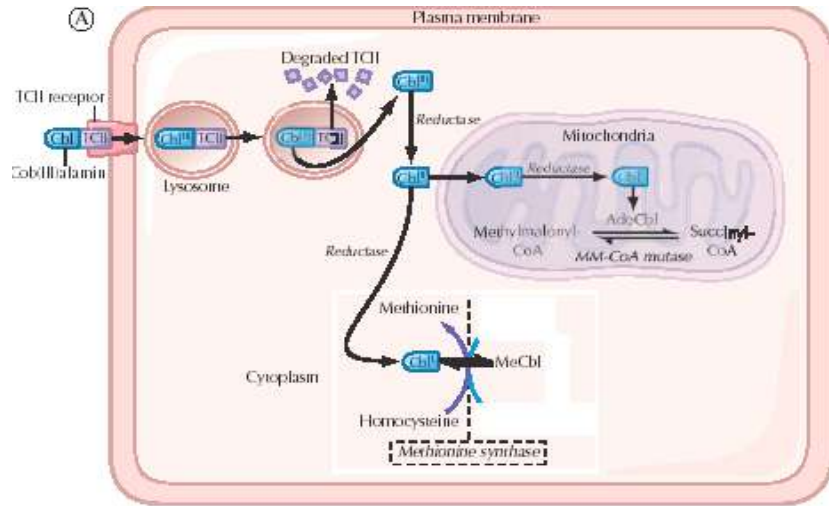
Hematopoese normal – síntese coordenada de várias substâncias – intensa proliferação celular

Vitamina B12 (cobalamina) – co-fator para 2 enzimas: **metilmalonil CoA mutase** e **metionina** sintetase.



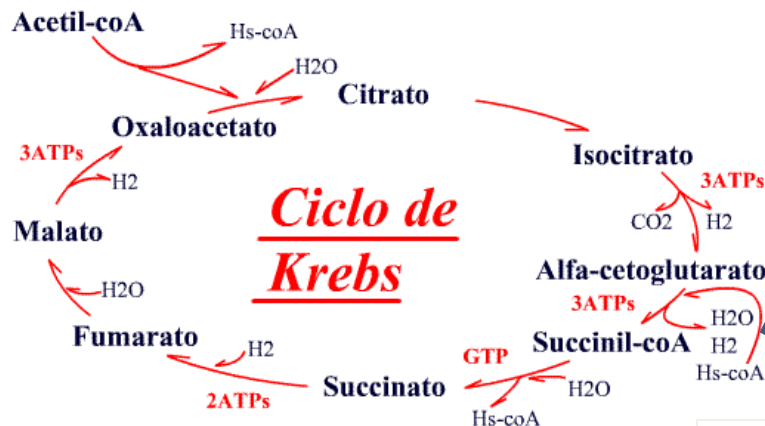
Homocisteína – aminoácido produzido após a digestão de carnes e laticínios

Inter-relações metabólicas da vitamina B12 (cobalamina)



Esquema 2. Rota biossintética do grupo heme

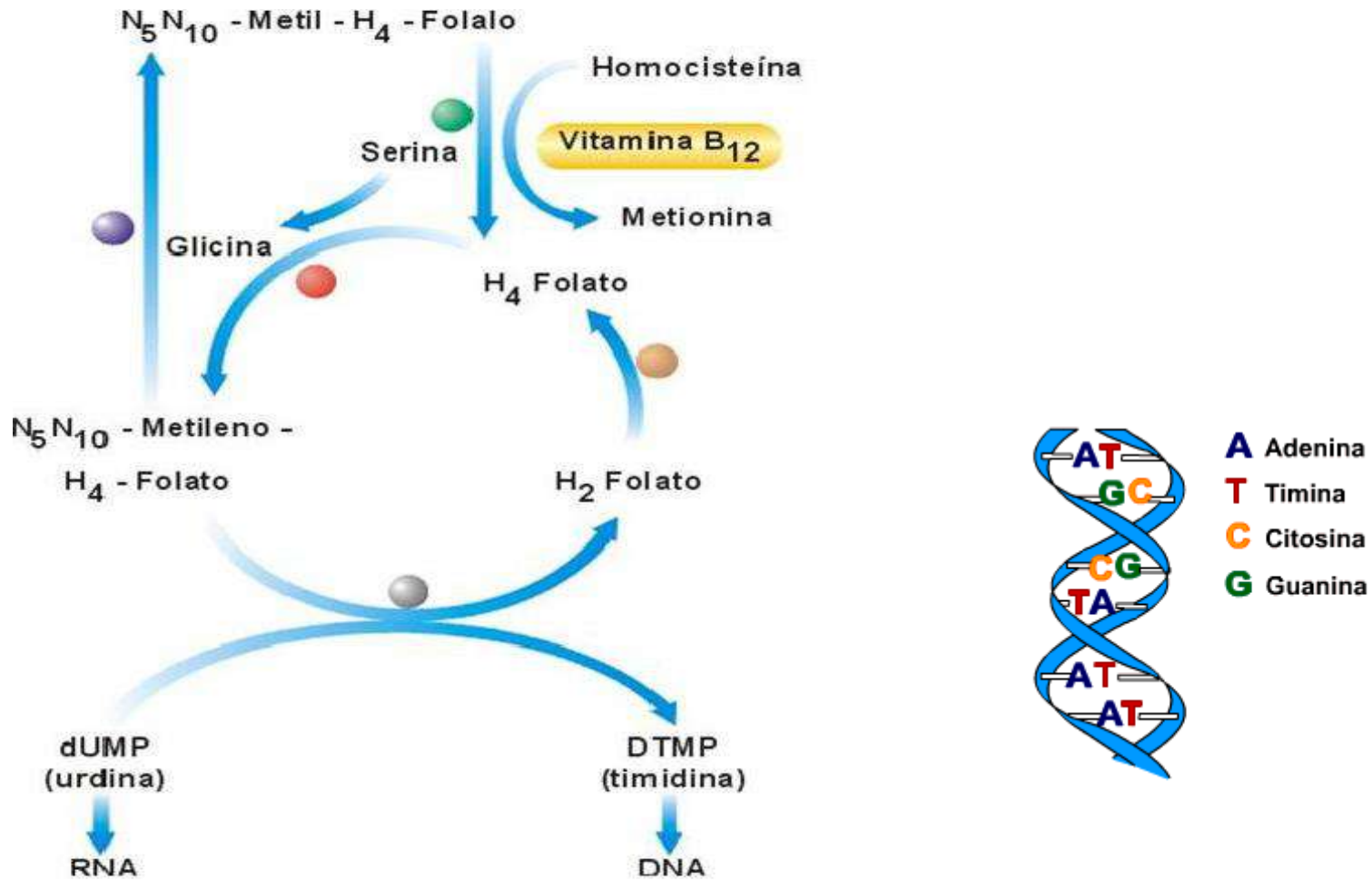
Síntese do heme



Enzima marca passo: **Isocitrato desidrogenase**

Ciclo de Krebs

Inter-relações metabólicas do folato e vitamina B12 na síntese de DNA



A síntese inadequada de DNA : modificações no ciclo celular;
retardo da duplicação do DNA.

Anemia Perniciosa

Anemia megaloblástica

- ✓ Protótipo das anemias megaloblásticas;
- ✓ Causada por deficiência de vitamina B12;
- ✓ Incidência de 20% - sendo rara em pessoas com menos de 30 anos;
- ✓ 1 a 2% das pessoas com mais de 60 anos – anemia perniciosa não diagnosticada;
- ✓ Encontrado em todas as raças, sem predomínio de sexo;
- ✓ Predisposição genética - ↑ 20 vezes mais o risco da doença;
- ✓ Doença de natureza imunológica;
- ✓ **Associada à gastrite atrófica – ausência do fator intrínseco e secreção de ácido clorídrico.**

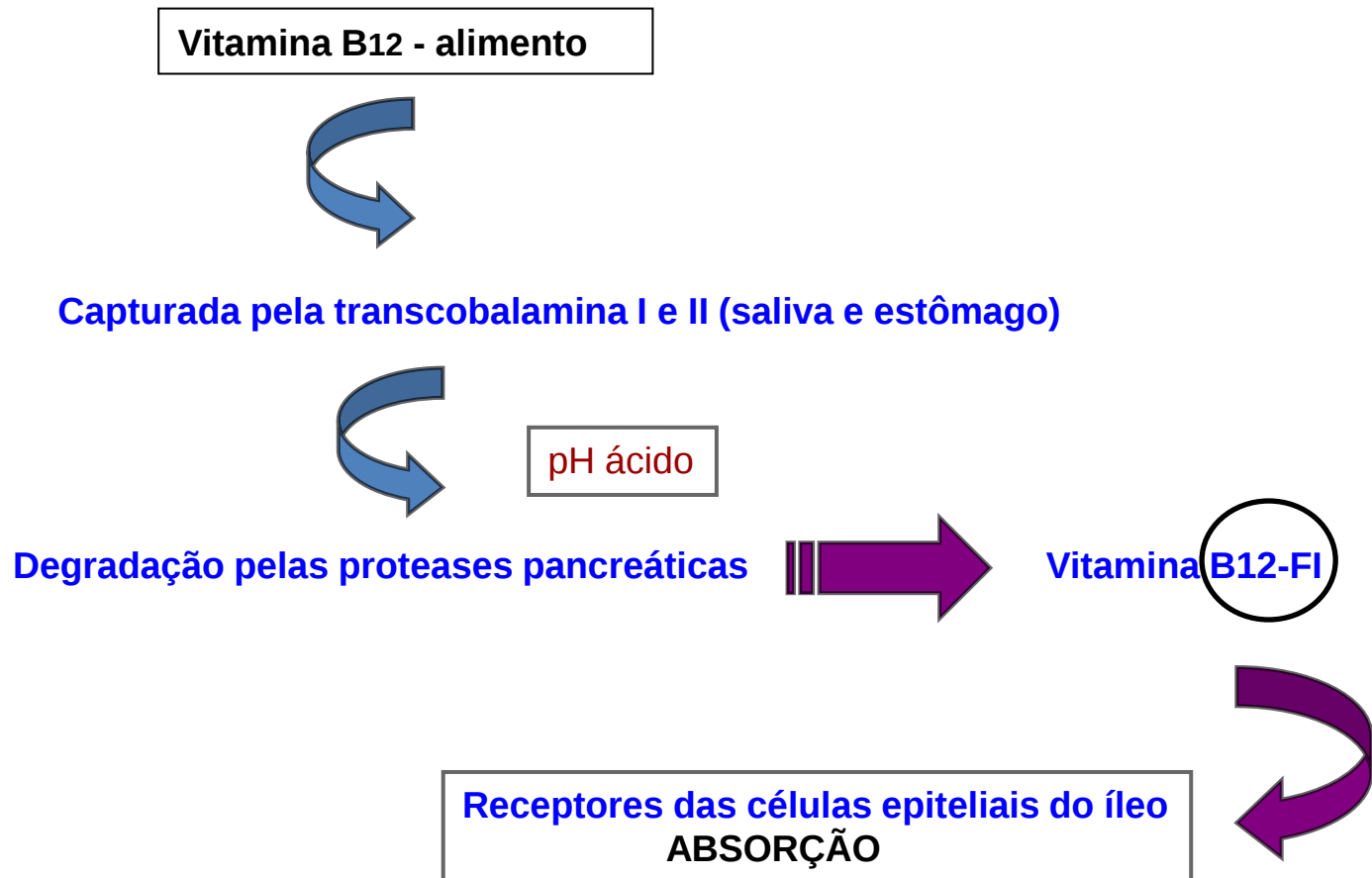


Má absorção de vitamina B12

Anemia macrocítica

Anemia Perniciosa

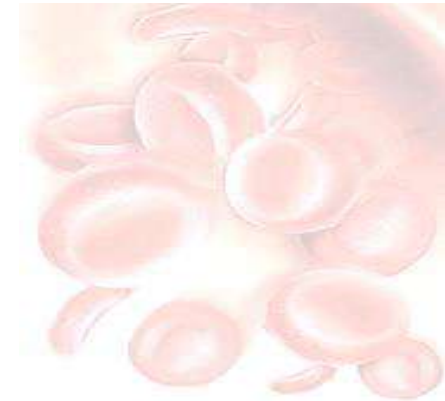
Absorção da vitamina B12



Manifestações clínicas

Fraqueza,
Úlcera na língua,
Parestesias.

**Tríade
diagnóstica**



Anemia,
Diarréia,
Glossite (ardência e aparência vermelha da língua),
Perda de apetite,
Sangramento e infecções — pouco comum

**Diagnóstico
complementar**

Manifestações clínicas



Degeneração sub-aguda da medula espinhal (parestesia) → **falta de metionina**
Distúrbios motores – dificuldade de marcha;
Comprometimento das sensibilidades termo-
algésicas e dolorosas “em bota ou “em luva”.

**Manifestações
neurológicas**

Depressão – deficiência de folatos
Déficit de memória,
Disfunção cognitiva,
Demência. } deficiência de vit. B12

**Manifestações
Mentais**

Diagnóstico Laboratorial

- Quadro morfológico – idêntico nas 2 deficiências
- 2 situações: morte celular ou sobrevivência com anormalidades morfológicas (eritrócito de tamanho avantajado)

Medula óssea hipercelular – aumento de eritropoetina;

Desordem nas 3 linhagens – +++ linhagem eritróide;

Megaloblastos e metamielócitos gigantes;

Hematopoese ineficaz – morte intramedular

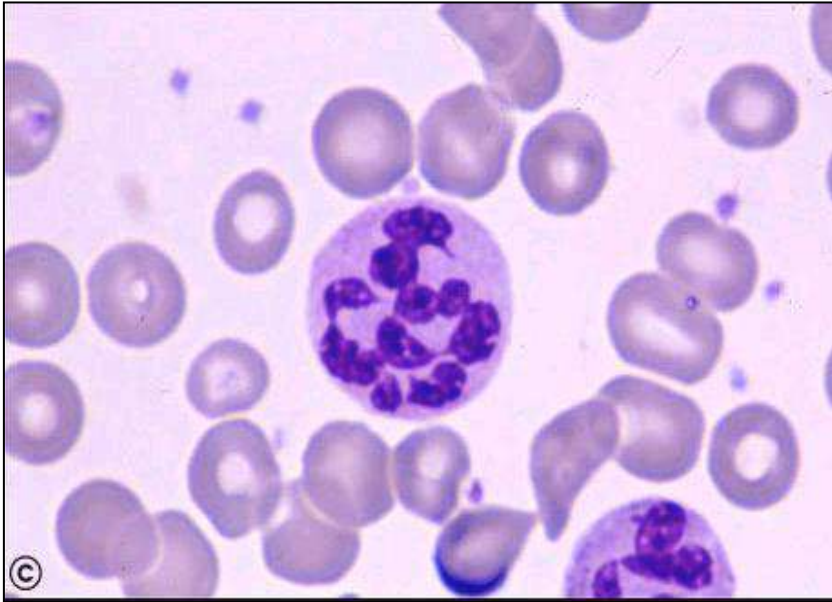


Diagnóstico Laboratorial

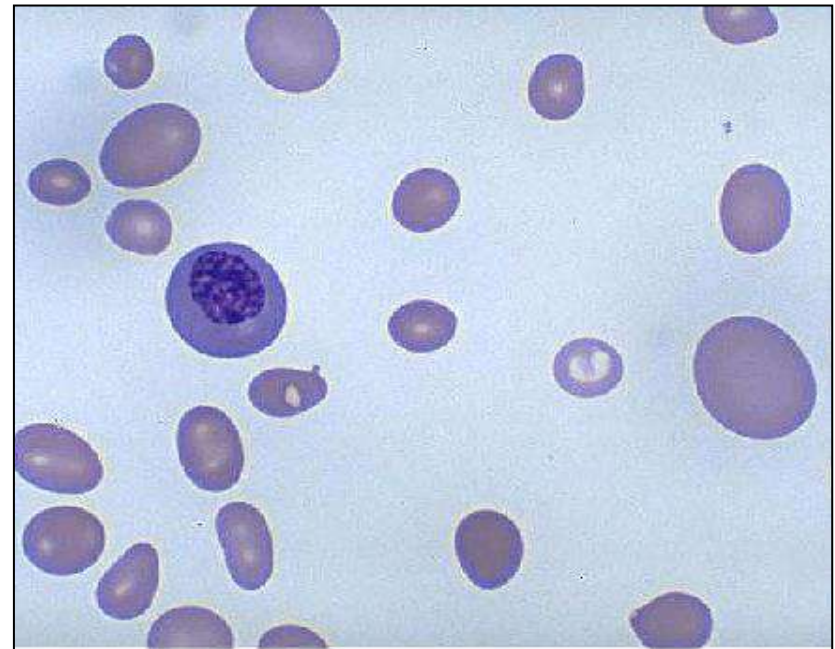
**Anemia normocrômica / macrocítica;
Leve diminuição no número de eritrócitos;
↑ VCM;
HCM e CHCM normais;
Neutrófilos com hiperssegmentação;
Poiquilocitose: macroovalócitos;
RDW: N ou ↑;
Inclusões podem ser encontradas: pontilhado basófilo
(ribossomo), corpúsculo de Howell-Jolly, anel de Cabot (restos
nucleares);
Eritroblastos;
Plaquetas gigantes.**

Sangue
periférico

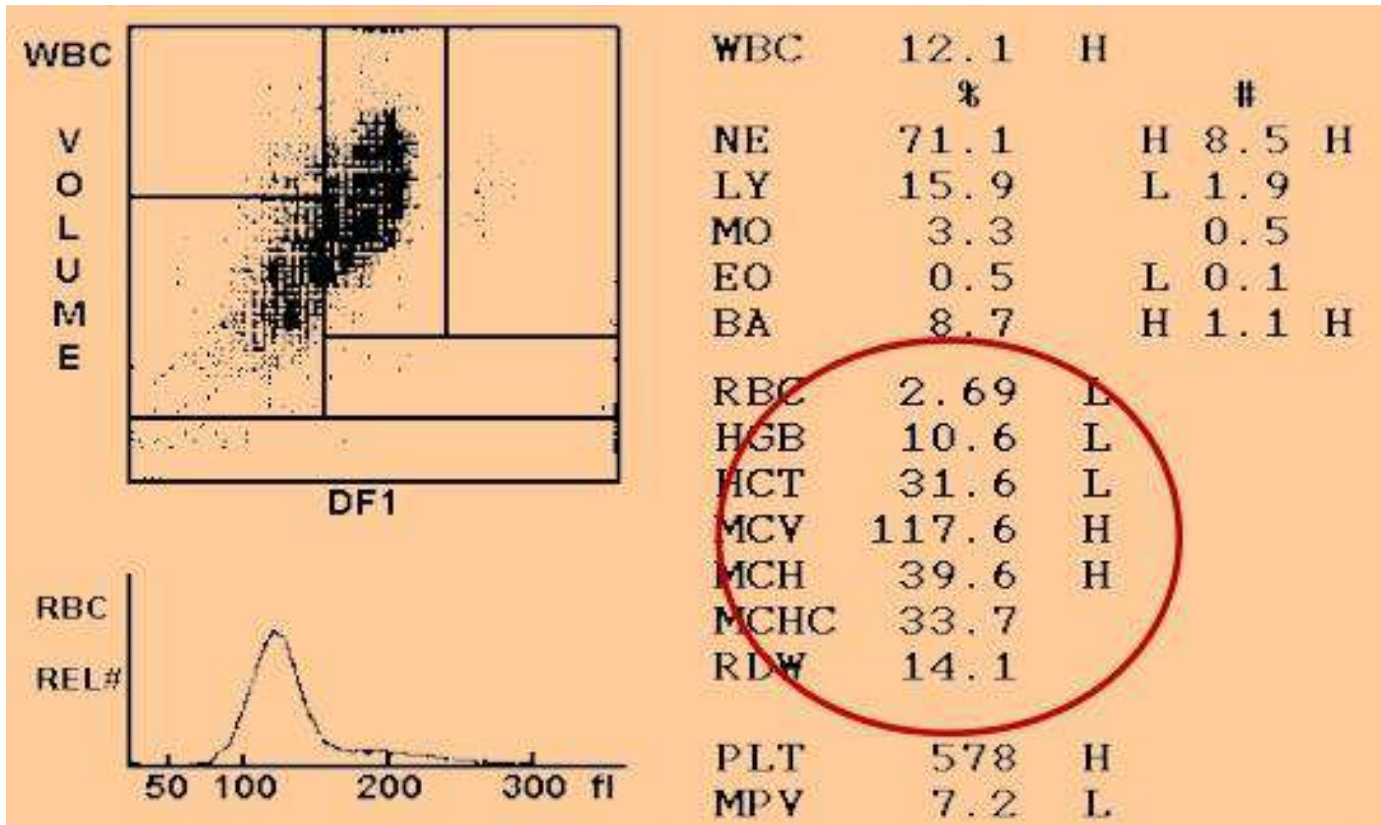
Diagnóstico Laboratorial



Evidências hematológicas



Diagnóstico Laboratorial



Questionário anemia macrocítica

De acordo com os slides postado na plataforma, responda:

1. Quais os principais achados laboratoriais hematológicos da anemia megaloblástica?
2. Qual é a relação entre vitamina B12 e a síntese de DNA?
3. Qual a relação da homocisteína e a vitamina B12?
4. Qual é a principal causa da anemia perniciosa?
5. Explique a relação do fator intrínseco e a anemia macrocítica.



Captação e triagem do doador

Triagem do doador

Reduzir cada vez mais os riscos relacionados à transfusão de sangue, principalmente no que se refere à transmissão de doenças.

A habilidade e sensibilidade do triador:

- para obter e analisar informações;
- ter conhecimentos técnicos em analisar caso a caso;
- postura ética (respeito, ausência de preconceitos e sigilo profissional)



Triagem do doador

Etapas da triagem:

1. Recepção e registro do doador

O doador pode candidatar-se a doação de quatro formas:

- Doação Espontânea/ Voluntária: feita de modo altruísta, como uma atitude solidária ;
- Doação Vinculada/específica: feita vinculada á algum paciente;
- Doação por convocação: para doadores cadastrados (genótipos raros);
- Doação autóloga: doar para si mesmo.

Dados do registro:

- nome completo, filiação, data de nascimento, sexo, estado civil, naturalidade, nacionalidade, profissão, endereço residencial, comercial e telefones de contato.

- apresentar um documento de identidade com fotografia, emitido por órgão oficial (carteira de identidade, carteira profissional, certificado de reservista, carteira de habilitação ou passaporte). Não servem carteira de estudante, de clube ou similares, mesmo que tenham fotografia.



Triagem do doador

Ao ser registrado o candidato recebe um **número** que o identifica no cadastro de doadores da Unidade de Hemoterapia (UH).

Sempre que for doar sangue, ele deverá confirmar ou **atualizar seus dados**.

No registro também é feita a **identificação do tipo da doação**.



**Facilita saber quantas doações já foram realizadas;
Causas de exclusões anteriores**



Captação do doador

É explicado ao doador todo procedimento da triagem, coleta e pós-coleta

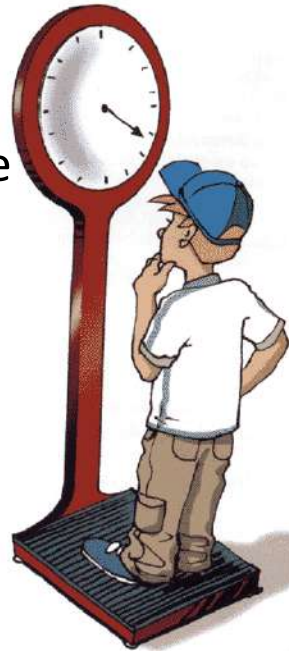
- como é realizado a triagem (clínica e entrevista)
- a doação – volume colhido, tempo de coleta e exames laboratoriais
- oferecem o cadastro para doadores de M.O. - REDOME
- após coleta – permanência de no mínimo 15 minutos no local
- lanche e hidratação após a doação
- orientar em não pilotar avião, conduzir ônibus, fazer mergulho, subir em andaimes/escadas
- orientar a ficar 1 hora sem fumar e 12 horas sem fazer esforço físico
- carteirinha do doador



Triagem do doador

O que é necessário para doar:

- **Idade** entre 18 e 69 anos;
- Doadores com idade de 16 e 17 anos de idade, são aceitos para doação mediante a presença e autorização formal dos pais e/ou responsável legal;
- O limite de idade para primeira doação é de 60 anos;
- **Peso** mínimo de 50 kg (com desconto de vestimentas);
- O candidato à doação deve estar em boas condições de saúde, sem feridas ou machucados pelo corpo;
- Ter repousado bem na noite antes da doação;
- Evitar o jejum. Fazer refeições leves e não gordurosas, nas 4 horas que antecedem a doação;
- Evitar uso de bebidas alcoólicas nas últimas 12 horas.



Triagem do doador

Etapas da triagem:

2. Triagem clínica

- Pré-triagem: verificação do peso, pressão arterial, temperatura e pulso;
- Triagem hematológica: dosagem do hematócrito (Ht- %) / Hb (g/dL);



Triagem do doador

Requisitos e critérios correspondentes para a **triagem**:

- **peso** mínimo 50 kg;
- sinais vitais com **temperatura** axilar menor ou igual a 37°C;
- **pulso** regular, rítmico, com frequência entre 50 e 100 batimentos por minuto;
- **pressão arterial (PA)**:
 - PA sistólica - no máximo 180mmHg;
 - PA diastólica - no mínimo 60 mmHg e no máximo 100mmHg.

Critérios para **triagem hematológica**:

- níveis de **hemoglobina (Hb) ou de hematócrito (Ht)**:

Mulheres:

- Hb no mínimo em 12,5 g/dL e no máximo em 18 g/dL ou
- Ht no mínimo em 38% e no máximo em 54%

Homens:

- Hb no mínimo em 13 g/dL e no máximo em 17 g/dL ou
- Ht no mínimo em 40% e no máximo em 50%
- não estar incluído nas causas de inaptidão definitiva ou temporária

Triagem do doador

Algumas observações importantes:

- **intervalo entre as doações:**

Mulher - mínimo de 90 dias

Homem – mínimo de 60 dias

Idade entre 60 e 69 anos – aguardar 180 dias

- **repouso** no mínimo de 6 horas nas 24 horas que antecede a doação
- se o doador fez **refeição gordurosa** deve-se esperar 3 horas para a doação
- é oferecido **hidratação oral** antes da doação/sem jejum.



Triagem do doador

3. Entrevista: individual e sigilosa

História clínica do candidato - conjunto de informações relacionadas à saúde - suas doenças atuais e passadas, doações anteriores, internações, cirurgias, transfusões, vacinas, remédios utilizados, hábitos e vícios, etc.

História epidemiológica do candidato - conjunto de informações sobre possíveis contatos com agentes infecciosos com desenvolvimento ou não de doenças. Esses contatos podem ser decorrentes de comportamentos, de hábitos ou vícios pessoais, convivência com pessoas infectadas ou estadia temporária ou permanente em áreas endêmicas para doenças transmissíveis pelo sangue.

*A triagem clínica é realizada **todas as vezes que o candidato comparece para doar sangue, mesmo que ele já tenha feito doações anteriores.***



Triagem do doador

Entrevista: 70 perguntas aproximadamente

Nos últimos meses sofreu alguma enfermidade? Fez algum tipo de cirurgia?

Já teve doença do fígado, icterícia, algum resultado positivo para hepatite?

É cardíaco ou tem alguma doença pulmonar, como asma, bronquite? Já teve câncer?

Nos últimos 12 meses foi submetido a alguma transfusão? Ou a algum tipo de transplante?

Tem tatuagem ou piercing? A quanto tempo fez ou colocou? Você viu se o material era esterilizado?

Como está a sua saúde hoje? Está gripado, resfriado, com alguma alergia?

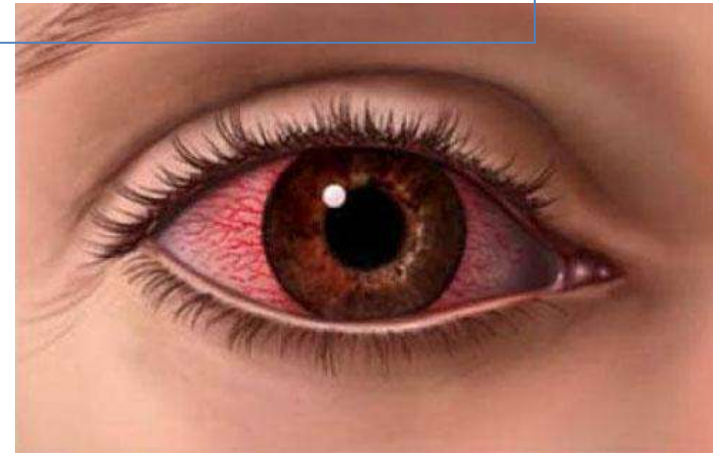
Viajou nos últimos meses? Esteve fora do país? Quando retornou?

...

Triagem do doador

Durante a entrevista – **atenção:**

- olhos vermelhos, ictéricos, esbugalhados, lacrimejantes;
- pele pálida, cianosada, ictérica, lesionadas, com marcas de punções;
- face inchada;
- fala incoerente, reticente;
- hálito alcoólico;
- andar irregular.



Triagem do doador

Boletim informativo

Qualquer epidemia que ocorre no mundo é informado ao Hemocentro.

- Nome da doença,
- Áreas endêmicas,
- Transmissão,
- Sinais e sintomas,
- Tempo de inaptidão.

- Restrição para doação em casos de viagens para os Estados da região norte do Brasil.



Inaptidão definitiva/temporária para a doação de sangue

Inapto Definitivo	Inapto temporário
AVC , arritmia cardíaca, infarto, uso de marca-passo	Miocardite – 1 ano após a cura Cateterismo – 3 meses após
CA de pulmão , bronquite crônica sintomática, embolia pulmonar	Pneumonia – 15 dias após tratamento Tuberculose – 5 anos após a cura
Cirrose hepática, icterícia desconhecida, Hepatite B e C	Úlcera gástrica – 1 ano após a cura Gastrite – 1 semana após a cura
Doença renal crônica , Diabetes, Doença de Chagas	Infecção urinária baixa – 14 dias após o tratamento
Anemias hereditárias , aplasia de M.O., Neoplasias, Hemocromatose	Anemia ferropriva – após reposição do ferro (cura)
Trombofilia, Trombose, Hemofilia	Amidinite – 15 dias após o tratamento Gestante – após 3 meses
Doenças auto-imunes , AR, Lupus, Febre reumática, Sífilis (VDRL +)	Gota – 7 dias após a cura Hipotireoidismo – autorização médica

Inaptidão definitiva/temporária para a doação de sangue

Inapto Definitivo	Inapto temporário
Doenças neuronais (esclerose)	Convulsões – 3 anos após suspensão da medicação
Psoríase	Acne grave – 1 mês após tratamento Herpes zoster – 6 meses após cura
Intoxicação por metais pesados	Labirintite – 30 dias após cura Conjuntivite – 1 semana após cura
Malária, Leishmaniose, Hanseníase, Elefantíase	Dengue – 4 semanas após a cura Gripe/Sinusite – 2 semanas após a cura
Transplantados, Redução do estômago	Transfusionados – 1 ano após Endoscopia – 6 meses
HIV, HTLV	Cirurgia plástica – 6 meses após Cirurgia odontológica – 1 mês após
Uso de drogas injetáveis	<i>Piercing</i> /Tatuagem – 6 meses a 1 ano após

Grupos em situação de risco aumentado:

Serão inabilitados por 1 ano, como doadores de sangue, os candidatos que nos 12 meses precedentes tenham sido expostos a uma das situações abaixo:

- Homens e/ou mulheres que tenham feito sexo em troca de dinheiro ou de drogas, e os parceiros sexuais destas pessoas.
- Pessoas que tenham feito sexo com um ou mais parceiros ocasionais ou desconhecidos, sem uso do preservativo, ou que foram vítimas de estupro.
- Homens ou mulheres que tenham tido relação sexual com pessoa com exame reagente para anti-HIV, portador de Hepatite B, Hepatite C ou outra infecção de transmissão sexual e sanguínea.
- Pessoas que estiveram detidas por mais de 24 horas em instituição carcerária ou policial.
- Pessoas que sejam parceiros sexuais de hemodialisados e de pacientes com história de transfusão sanguínea.
- Pessoas que tiveram acidente com material biológico e em consequência apresentaram contato de mucosa e/ou pele com o referido material biológico.

[Inicial](#) [Acompanhe : Notícias](#) maio : Aprovado fim de restrição à doação de sangue...

NOTÍCIAS

14/05/2020 17h00

Aprovado fim de restrição à doação de sangue por homossexual

Alvo de polêmica, projeto segue orientação do STF e proíbe que doadores sejam discriminados por orientação sexual.

 [Tweetar](#)
 [Compartilhar](#)




Em votação remota, outro projeto aprovado assegura à pessoa com diabetes o direito de portar alimentos e insumos para monitorar a glicemia - Foto:William Dias

[Álbum de fotos](#)

Outras Inaptidões temporárias para a doação de sangue

Uso de medicamentos:

Cada medicamento deve ser avaliado individualmente, principalmente pela indicação de seu uso.

Imunização:

Vacinas com vírus/bactéria viva (atenuado)

BCG, Caxumba, Dupla viral, Febre amarela, Sarampo, Pólio oral, Influenza (gripe), Rubéola, Rota Vírus, Tríplice, Catapora.

- **inaptidão por 4 semanas**

Vacinas com vírus/bactéria morta

Cólera, Difteria, Tétano, Hepatite A, Influenza tipo b, Meningite, HPV, Coronavac.

- **inaptidão por 48 horas (sem febre)**



Triagem do doador

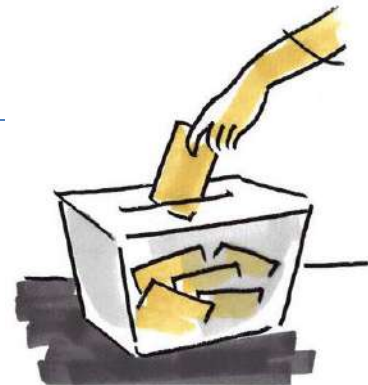
Após a entrevista :

- **Voto de auto-exclusão**

Número da triagem: XXXXX

Pergunta: Você foi sincero durante a entrevista? Sim ou Não

Caso a resposta seja **NÃO** – ocorre toda a doação, mas a bolsa é descartada



Obs: após a entrevista e todas as informações transmitida ao doador – **assinar o TCLE**

Triagem do doador

LOGO

Nome do Serviço .. Nome do Serviço .. Nome do Serviço .. Nome do Serviço ..

LOGO

Auto-exclusão

Etiqueta de Doador

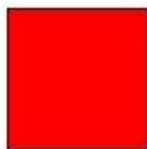
Marque com um X no procedimento que você julgar mais correto



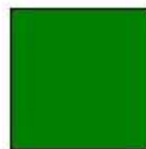
☐ O Hemocentro **pode** utilizar meu sangue para transfusão

☐ O Hemocentro **não deve** utilizar meu sangue para transfusão, somente para exames

Você disse toda a verdade durante a entrevista clínica, não escondeu nenhuma informação e acha que podemos utilizar seu sangue para ser transfundido ?



Não



Sim

Triagem do doador

Descarte de bolsas de sangue

(antes da realização dos exames laboratoriais):

- Triagem duvidosa;
- Problemas na coleta;
- Acesso venoso difícil;
- Erro de identificação;
- Falhas nas perguntas;
- Voto de auto-exclusão.



Triagem do doador

Coleta por Aférese

Agendada



Geralmente a triagem é igual ao doador convencional

Alguns requisitos:

- ter acesso venoso bom;
- disponibilidade de tempo (90 minutos);
- não fazer uso de medicamentos como AAS ou anti-inflamatórios;
- gestações???

Triagem do doador

Etapas da doação:

1. Recepção e registro do doador;
2. Triagem clínica;
3. Entrevista;
4. Coleta.



Coleta do doador



Exames realizados: Hepatite B e C, Sífilis, Aids, Doença de Chagas, HTLV, determinação de grupo sanguíneo AB0/Rh, pesquisa de hemoglobinas anormais.

Coleta do doador

A coleta:

- realizada por pessoal capacitado;
- sob supervisão médica;
- a sala de coleta deve ser limpa, iluminada e agradável.



Coleta do doador



Coleta do doador

A coleta:

- o material da coleta deve ser descartável;
- bolsa de sangue com sistema fechado e estéril;
- a quantidade de anticoagulante na bolsa deve ser de 60-65 mL;
- a quantidade de sangue colhido é de no máximo 450 mL por bolsa;
- a bolsa pode ser dupla ou tripla;
- identificação correta por código de barras.



Coleta do doador



Coleta do doador

Anti-sepsia - etapas:

- degermante (PVPI) – sabão com anti-séptico
- iodo
- álcool



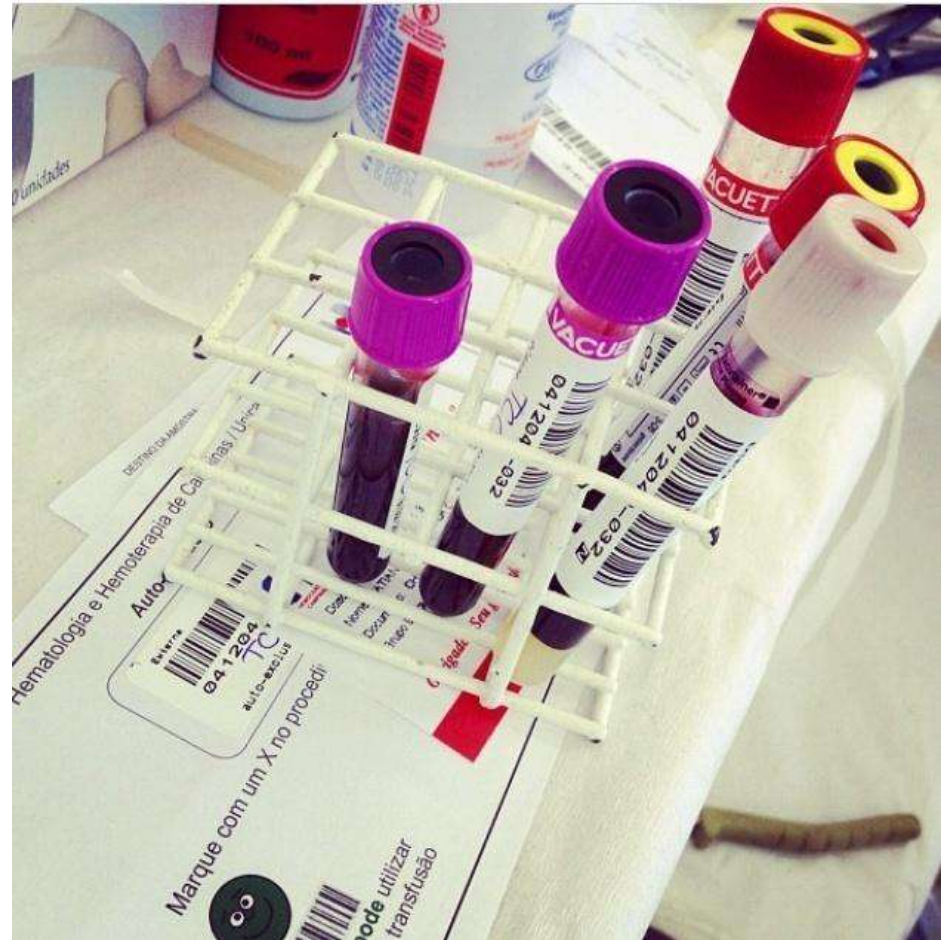
Coleta do doador

Tubos de exames:

Identificação correta (código de barras)

- 1 tubo EDTA – imuno-hematologia
- 1 tubo EDTA – HLA (banco de medula)*
- 1 tubo gel – NAT
- 1 tubo gel – sorologia
- 1 tubo gel – imuno-hematologia

OBS: * opcional



Coleta do doador

Após coleta:

- oferecer hidratação oral e lanche;
- deve permanecer no local no mínimo 15 minutos;
- retirar o adesivo protetor depois de 4 horas do procedimento;
- 1 horas sem fumar;
- 12 horas sem fazer atividade física.



Coleta do doador

Coletas internas e externas:

- Internas - realizadas por uma equipe fixa no local de doações (Hemocentro).
- Externas - realizadas por equipes que se deslocam para locais pré determinados, facilitando o acesso do doador, através da Unidade Móvel



Cadastro das bolsas dos doadores



Coleta do doador

Coleta por aférese – O que é?

É um procedimento de separação dos componentes sanguíneos durante a doação.

É separado somente o componente desejado do sangue total, devolvendo os demais ao doador, através da centrifugação do material.

Durante a aférese, o sangue é retirado do braço do doador, passa por um kit estéril e descartável, instalado em um equipamento separador de células, através de uma centrifugação.

O sangue não entra em contato com a máquina. O componente desejado é drenado para uma bolsa de coleta e os demais componentes vão retornando continuamente ao doador.

Aférese



Centrifugação / diferença de densidade celular

Aférese



Coletas:

- ✓ plaquetas
- ✓ hemácias
- ✓ granulócitos
- ✓ plasma
- ✓ célula-tronco



Aférese

Kit descartável



Bolsas estéreis



Anticoagulantes

Coleta do doador

O que é necessário para coletar por aférese ?

- ter sido aprovado nas etapas de um doador (triagem clínica e entrevista);
- ter um bom acesso venoso;
- nunca ter recebido transfusão;
- ter valores plaquetários normais (150 a 450 mil/mm³);
- pesar mais de 60 kg;
- ter disponibilidade de tempo (90 minutos).

vantagem



Coleta do doador - aférese

Contra indicações para a coleta por aférese:

- ter feito uso de AAS, anti-inflamatórios e corticóides na última semana;
- estar em crise alérgica;
- estar com qualquer inflamação;
- ter realizado tratamento dentário nos últimos 3 dias.



Coleta do doador - aférese

Efeitos adversos durante a aférese:

- queda de pressão arterial,
- tontura, palidez, náuseas/vômitos,
- palpitações e sudorese fria,
- sensação de anestesia ou formigamento nos lábios, na face ou em outras regiões do corpo,
- manifestações alérgicas são raras.



A solução anticoagulante (citrato de sódio) utilizada na aférese pode levar a manifestações consequentes à diminuição do nível de cálcio.

Transporte das bolsas de sangue (internamente)

Interno



Externo



Fracionamento das bolsas de sangue

Fracionamento

Definição

Realizar o fracionamento (**separação**) e a **preparação** dos componentes sanguíneos para atendimento da região de abrangência do Hemocentro.

Função

- selecionar, armazenar e conservar os componentes sanguíneos;
- manter o controle e gerenciamento do estoque de sangue e componentes;
- distribuir sangue e hemocomponentes para as unidades transfusionais da rede, de acordo com a programação;
- gerenciar e distribuir hemoderivados recebidos do Ministério da Saúde/indústria para as unidades da área de abrangência;
- receber e documentar o retorno das informações sobre hemocomponentes e hemoderivados distribuídos.

Fracionamento

Os componentes sanguíneos (**hemocomponentes**)

são obtidos através de

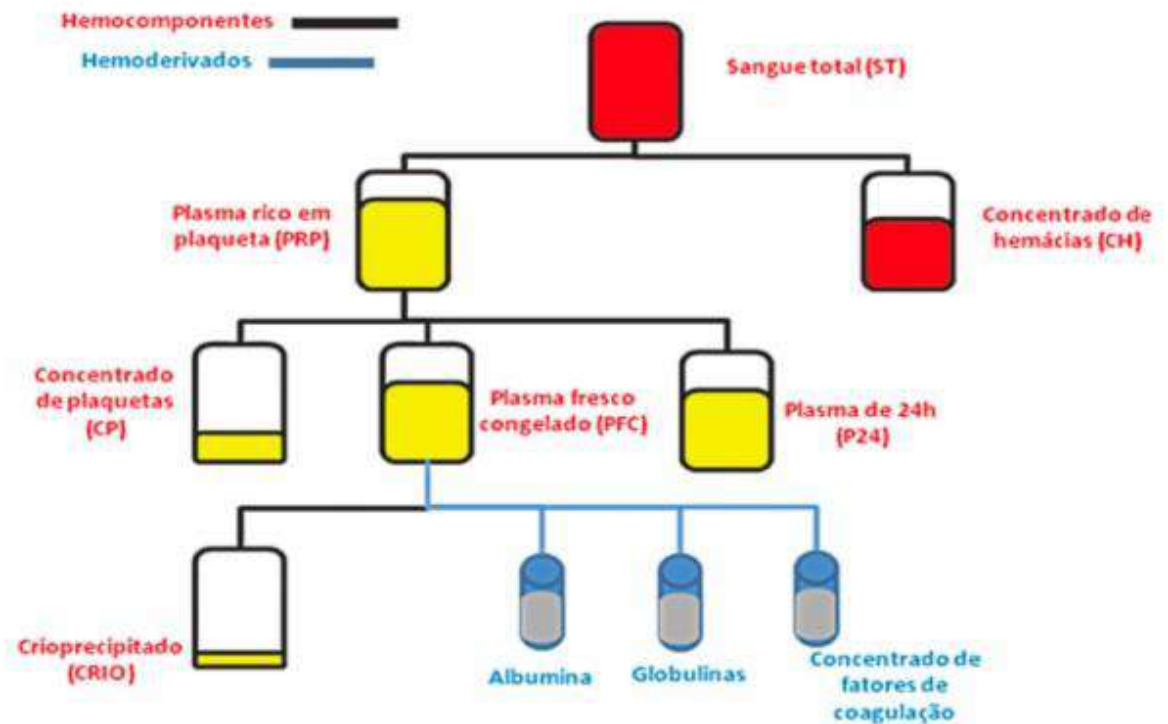
processos físicos e são eles:

- **Concentrado de hemácias**
- **plasma fresco congelado**
- **concentrado de plaquetas**
- **crioprecipitado.**

Já os derivados sanguíneos (**hemoderivados**)

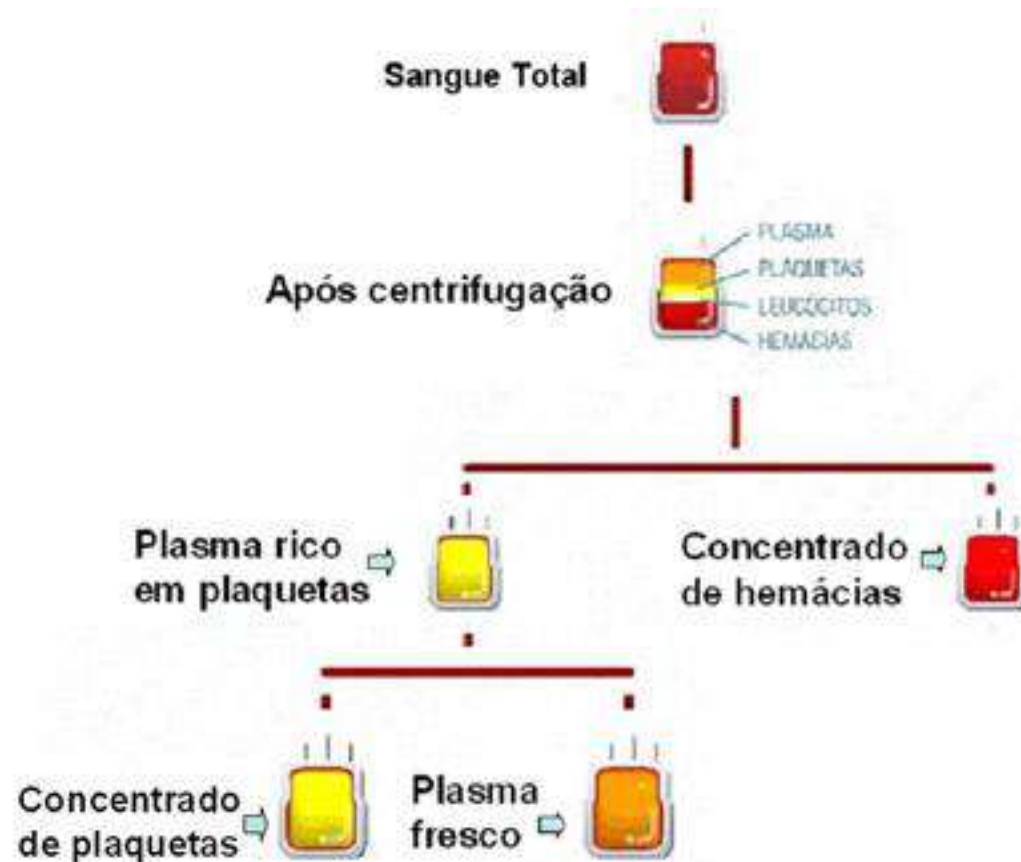
são fabricados através da industrialização do plasma e são eles:

- **albumina**
- **imunoglobulinas**
- **fatores da coagulação** (Fator VII, Fator VIII, Fator IX, além dos complexos protombínicos).



FONTE: ANVISA/09

Fracionamento



Fracionamento

Cadastro das bolsas no setor de fracionamento

Como essas bolsas
chegaram no setor?



Fracionamento

TRANSPORTE DO MATERIAL BIOLÓGICO TEMPERATURA (°C)

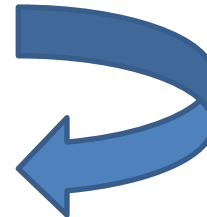
Sangue total

1 a 10°C (sem plaquetas)

20 a 24°C (com plaquetas)

Concentrado de Hemácias - 1 a 10°C

Concentrado de Plaquetas - 20 a 24°C



Plasma

≤ - 18°C - para transfusão

≤ - 20°C - para produção de insumos farmacêuticos

Fracionamento

- Aferir a temperatura da bolsa;
- Pesar a bolsa de sangue



Fracionamento

Peso das bolsas de sangue:

< 420,3g – **desprezar** a bolsa de sangue;

420,4 a 530,9g – apenas utiliza hemácias (**CHPV**) – concentrado de hemácias com pouco volume;

531 a 625,7g – **volume preciso**

625,8g – **desprezar** a bolsa de sangue (pouco anticoagulante)

Fracionamento

Problema na coleta de sangue



Coleta com mais de 15 minutos



Desprezar a bolsa



Fracionamento

Preparo para a centrifugação



Fracionamento

Centrifugação



Fracionamento

Bolsa dupla



Bolsa tripla



Fracionamento

Separação: hemácias e plasma

- Única centrifugação;
- 3500 rpm por 6 minutos
- Temperatura: 1 a 10°C



Bolsa dupla



Fracionamento



Processo automatizado de fracionamento



Separação CH e plasma

Fracionamento

Processo manual de fracionamento



Concentrado de Hemácias (CH)

O concentrado de hemácias (CH) é obtido por meio da centrifugação de uma bolsa de sangue total (ST) e da remoção da maior parte do plasma.

Seu volume **varia entre 220ml e 280mL**.

O concentrado de hemácias deve ser mantido entre 2°C a 6°C; e sua validade varia entre 35 e 42 dias, dependendo da solução conservadora.

Os concentrados de hemácias, sem solução aditiva, devem ter hematócrito entre 65% e 80%.

Devem conter pouca quantidade de plasma e leucócitos

Indicações: anemias sintomáticas, emergências (cirurgias, perdas de sangue)

Concentrado de Hemácias (CH)



Lavadas

objetivo de ↓ proteínas plasmáticas

Filtradas (Leucorreduzidas)

objetivo de ↓ leucócitos ($< 5 \times 10^6$)

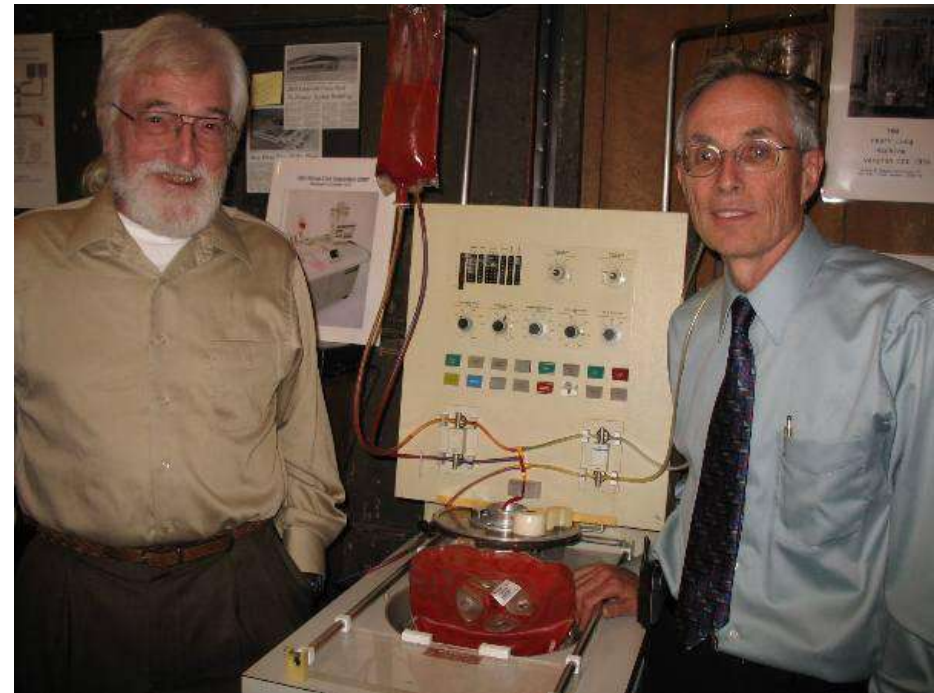
Aliquotadas

objetivo de ↓ quantidade de amostra (crianças)

Irradiadas

Linfócitos T inativados

Lavagem de Hemácias



**Automatizada
3 ciclos de lavagem**

Lavagem de Hemácias

Lavagem com salina estéril e refrigerada (mesma temperatura do sangue)
Sistema fechado e estéril

Ht: 60 a 80%

Volume de hemácias: 250 mL

Indicações: - anemias sintomáticas,
- em pacientes com risco de reações alérgicas a
proteínas plasmáticas.

Filtragem de Hemácias

Os filtros modernos, de 3ª geração, removem cerca de 99% dos leucócitos



Bolsa leucorreduzida

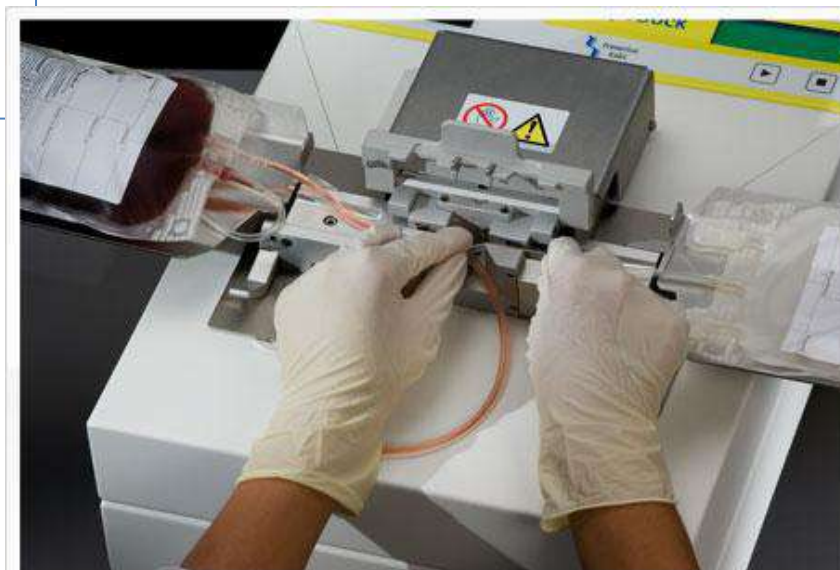
Indicações:

- politransfundidos;
- em 2º episódio de reação transfusional;
- pacientes imunossuprimidos;
- hemoglobinopatias.



Filtragem de Hemácias

O processo de filtração deve ser realizado até 48h após a coleta;
A bolsa será filtrada após liberação da sorologia;
A maioria das bolsas de sangue fenotipadas como O são filtradas;
Todas as doações específicas são filtradas;
A filtração manual deve acontecer até 45 minutos.



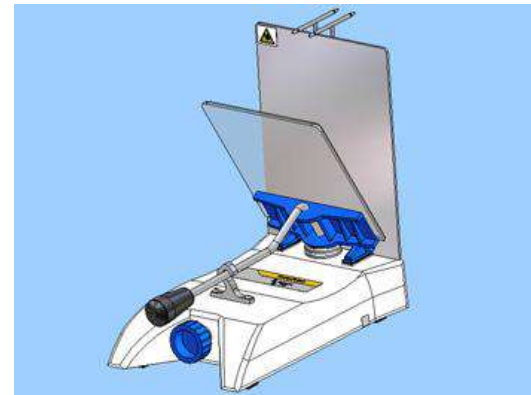
Desprezar bolsas com coágulos ou que demoram para filtrarem (mais de 45 min.)

Filtragem de Hemácias

Após o processo de filtração



Sela o extensor



Retira o ar



Pesar a bolsa e cadastra no sistema

$$337g - 34g \times 1,07 = 324mL$$

Ocorre perda de sangue – filtro e extensor

↓
densidade das hemácias

Câmara fria

Aliquotagem de Hemácias



Pesa a bolsa vazia
Faz o cálculo

Ex: o pediatra solicitou 100 mL de CH
 $100\text{mL} + 25\text{g} \times 1,07 = 133\text{g}$



Controle de qualidade da 1ª bolsa (original) - microbiologia

Câmara fria até transfusão

Irradiação de Hemácias

Característica: linfócitos T inativados

Indicação:

- Anemias sintomáticas;
- prevenção da doença enxerto X hospedeiro (deficiência imunológica);
- candidatos a TMO;
- transfusão de hemocomponentes de parente próximo.

Irradiador

Raios X e gama quebram a estrutura do DNA dos linfócitos e previne a resposta imunológica contra o receptor.
Realizar a radiação em até 14 dias da coleta.

Durabilidade da bolsa: 28 dias.

Câmara fria até transfusão

Plasma fresco congelado



O **plasma fresco congelado** (PFC) consiste na porção acelular do sangue obtida por centrifugação a partir de uma unidade de sangue total e transferência em circuito fechado para uma bolsa satélite.

Sua validade a -20°C é de 12 meses, a -30°C pode chegar a 24 meses.

O congelamento permite a preservação dos fatores da coagulação, fibrinólise e complemento, além de albumina, imunoglobulinas, outras proteínas e sais minerais, mantendo constantes suas propriedades.

Este produto tem que estar totalmente congelado em até 8 h após a coleta.

É constituído basicamente de água, proteínas (albumina, globulinas, fatores de coagulação e outras), carboidratos e lipídios.

Plasma fresco congelado

Indicações:

- Pacientes com deficiência de fatores da coagulação que não tenha comercialmente (V e XI);
- Pacientes que utilizam warfarina e apresentam sangramentos.



Utilizar em 24h após descongelamento



Após transfusão monitorar com o teste TP



Concentrado de plaquetas (CP)



Bolsa tripla

Passa por 2 processos de centrifugação
1º a 3000 rpm por 5 minutos,
Temp. de 24°C.

Extração do plasma por automação

2ª bolsa de plasma (rica em plaquetas) é
centrifugada a 3800 rpm por 8 minutos,
Temp. de 24°C.

Extração das plaquetas por automação



Concentrado de Plaquetas (CP)

O **concentrado de plaquetas (CP)** pode ser obtido a partir de unidade individual de sangue total ou por aférese, coletadas de doador único.

Cada unidade de CP unitários contém aproximadamente $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas em 50-60ml de plasma.

Indicações:

- sangramento devido trombocitopenia;
- situações específicas (leucemias).

Durabilidade: 5 dias

1ª doação e gestantes – não separa plaquetas (plasma vai para indústria)

Concentrado de Plaquetas (CP)

O concentrado de plaquetas (CP) randômicas (agrupadas por vários doadores)

Pool de plaquetas (5 a 6 bolsas)

ou

Aférese

Bolsas são filtradas e irradiadas

Repouso de 1 a 2 horas



Agitador de Plaquetas



Ângulo de 45°
Temp. 24°C

Estoque e distribuição



O setor da imunohematologia do paciente solicita os pedidos das bolsas para o Fracionamento.

Transporte



Liberação do plasma

Plasma com sorologia negativa → indústria farmacêutica



Tipagem sanguínea

Imuno-hematologia do doador/receptor

Pesquisar antígenos eritrocitários
Pesquisar anticorpos regulares

Importância:

- Incompatibilidades transfusionais;
- Incompatibilidades materno fetal.



Imuno-hematologia do doador/receptor

Incompatibilidades transfusionais – **Reações hemolíticas transfusionais (RHT)**

Definição – diminuição da sobrevivência das hemácias após transfusão sanguínea devido incompatibilidade imunológica entre doador e receptor.

Maior incidência – pacientes politransfundidos

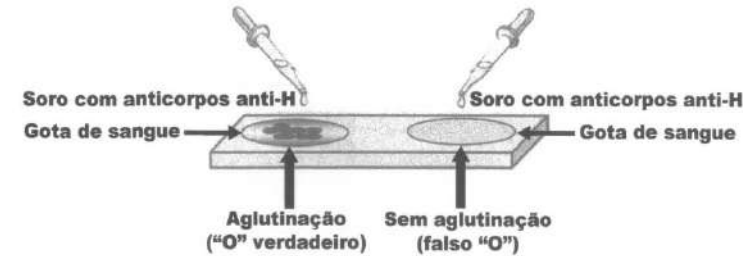
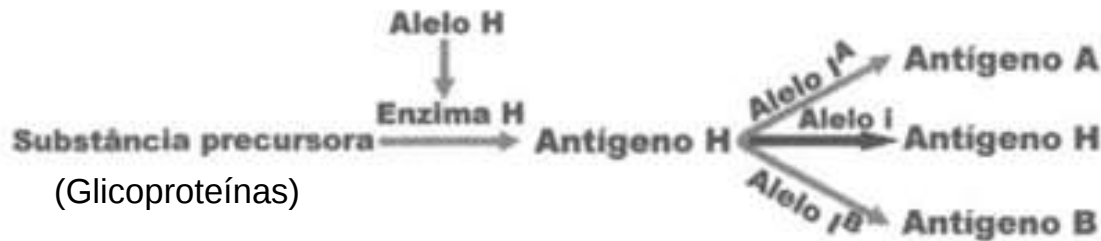
As reações podem ser:

- imediate – no momento ou algumas horas após transfusão
- tardia – dias ou semanas após transfusão

Tipagem sanguínea

Fenótipo	Genótipo	Antígeno ou aglutinogênio (nas hemácias)	Anticorpo ou aglutinina (no plasma)
Grupo A	I ^A I ^A ou I ^A i	Antígeno A	Anti-B
Grupo B	I ^B I ^B ou I ^B i	Antígeno B	Anti-A
Grupo AB	I ^A I ^B	Antígenos A e B	Sem anticorpos
Grupo O	ii	Sem antígenos	Anti-A e Anti-B

Fenótipo Bombay (Bombaim) – O_h (hh)



Alelo silencioso (hh) – homozigoto recessivo (não tem *lócus* H)

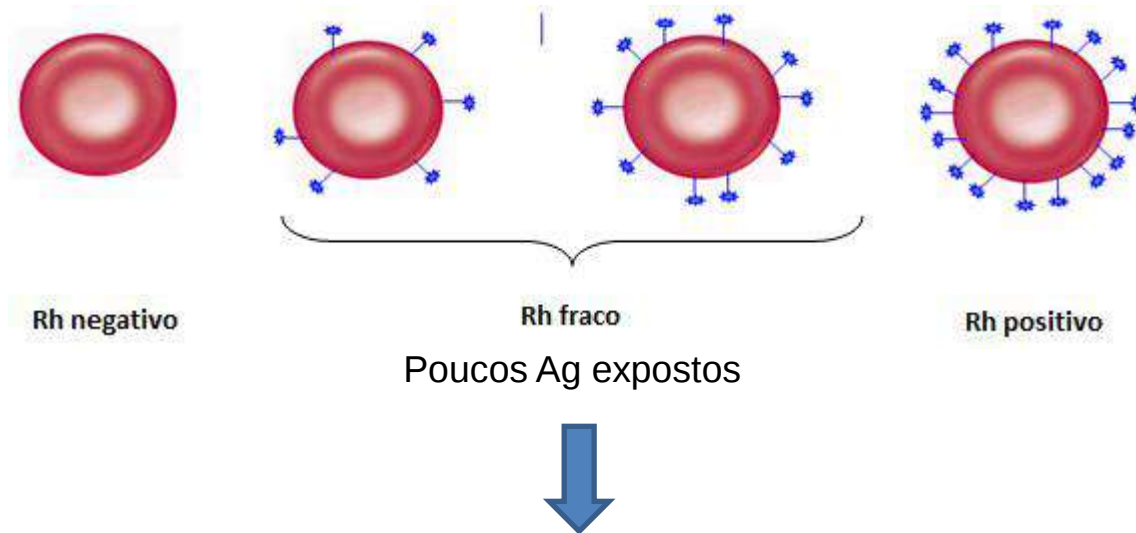


Apresentam Ac H
(anti-H no soro)

Gene H (cr. 19) produz a enzima α -2-L-fucosiltransferase (enzima H)

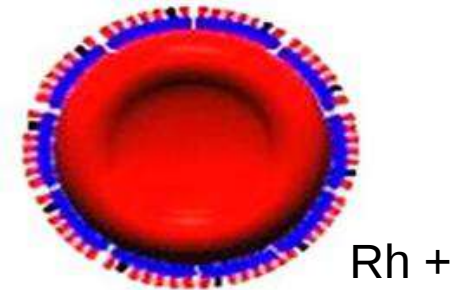
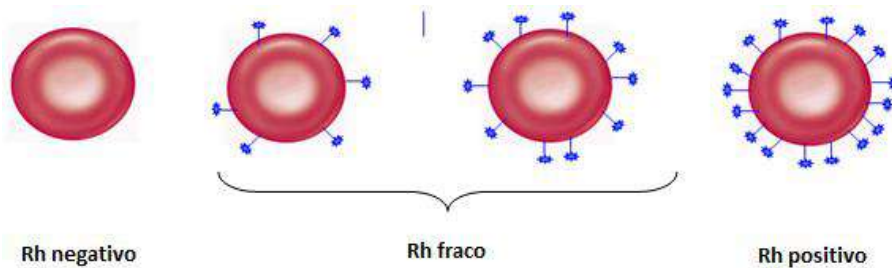
Falso "O"

Sistema Rh



Genótipo	Grupo	Hemácias	Plasma
DD ou Dd	Rh+	Com antígeno Rh	Sem anticorpos anti-Rh
dd	Rh-	Sem antígeno Rh	Com anticorpos anti-Rh se recebeu hemácias c/ antígeno Rh

Sistema Rh



Rh parcial ou mosaico

Gene híbrido

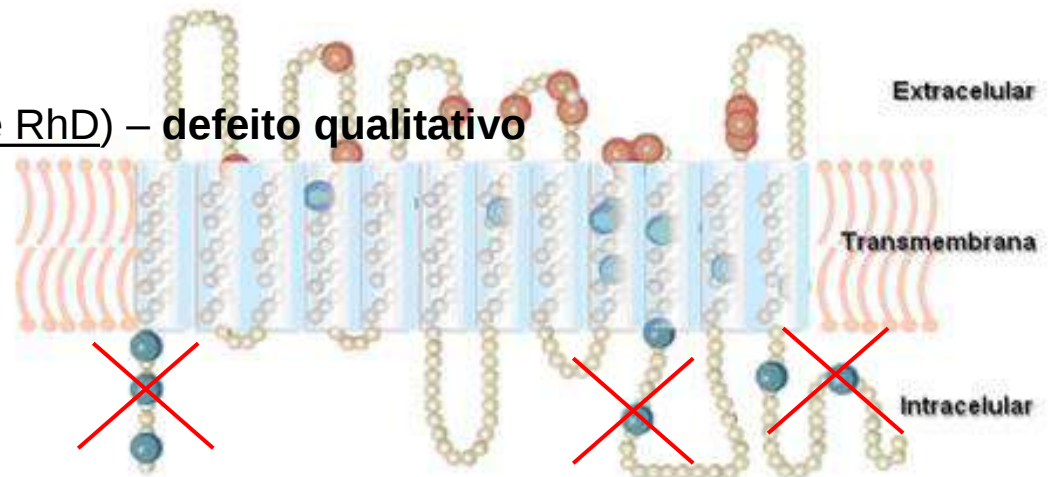
Epítomos ausentes (mutações no gene RhD) – **defeito qualitativo**



Formação de aloanticorpos
anti-D em contato com hemácias Rh +



Dificuldade na fenotipagem e problema na transfusão



Imuno-hematologia do doador/receptor

Provas de compatibilidade transfusional:

- tipagem ABO – doador
 - direta – pesquisa de Ag nas hemácias
 - reversa – pesquisa de Ac regulares no soro
- tipagem Rh
 - pesquisa de Dfraco
- pesquisa de anticorpos irregulares
 - Coombs direto - TAD
 - Coombs indireto – TAI
 - painel de hemácias
 - hemolisina (casos de bolsa tripla)

Tipagem sanguínea

Testes laboratoriais para tipagem sanguínea

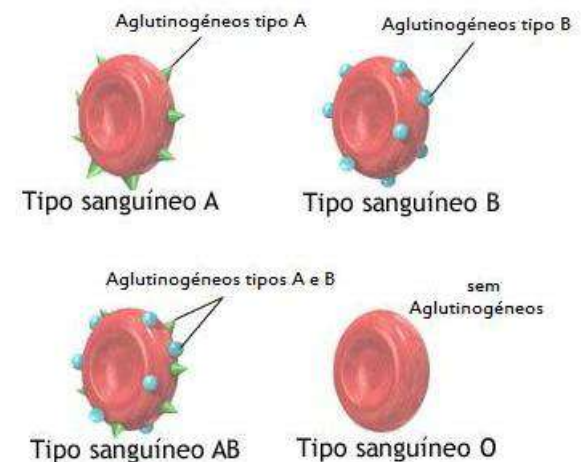
Tipagem ABO – doador

- Direta – pesquisa a presença do antígeno eritrocitário

Pode ser realizada em:

- **tubo;**
- **microplacas;**
- **gel de centrifugação (cartão).**

Obs: em lâmina - desuso



Tipagem sanguínea

Testes laboratoriais para tipagem sanguínea

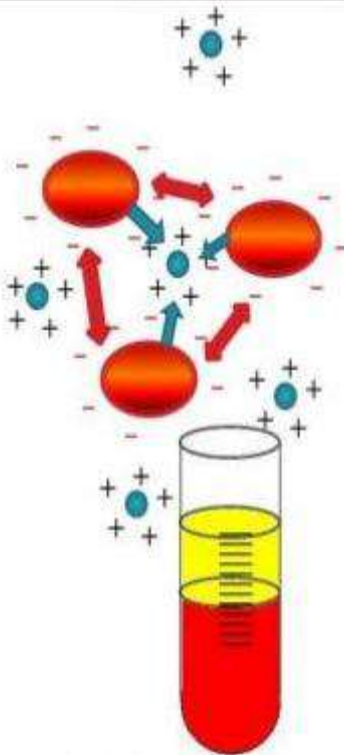
Tipagem ABO – direta em tubo

Hemácias do doador (5%) X soro comercial (anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, controle Rh)



Tipagem sanguínea

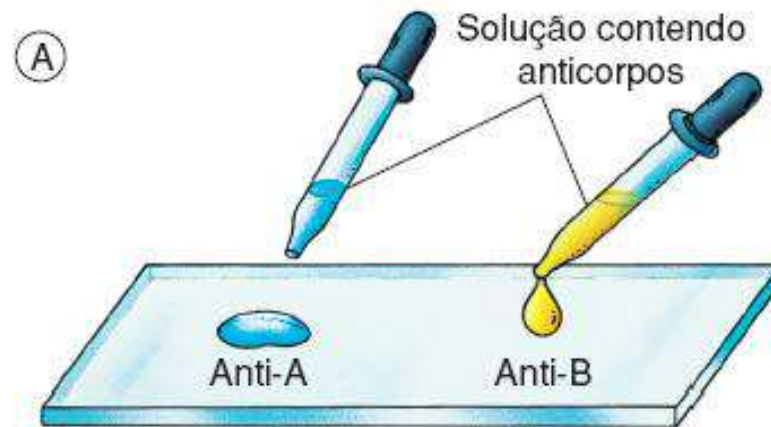
Hemácias do doador (5%) – 1 mL de solução fisiológica + 1 gota de hemácias já lavadas



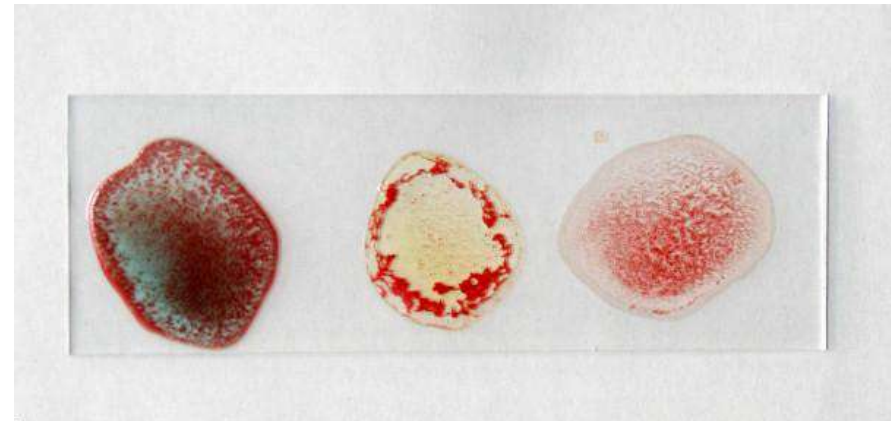
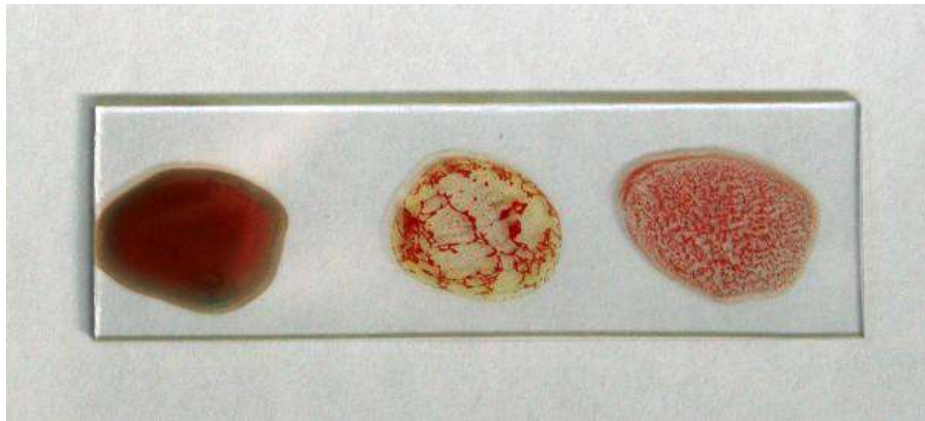
Essa força repulsiva eletrostática, chamada **potencial zeta** é produzido por uma intensa carga negativa em nível da superfície os eritrócitos, em decorrência da sua riqueza em **ácido siálico**, o que explica porque estas células se mantêm separadas

NaCl – neutraliza a força repulsiva – para maior agrupamento das hemácias, além de deixar o sítio de ligação livre.

Tipagem sanguínea direta em lâmina



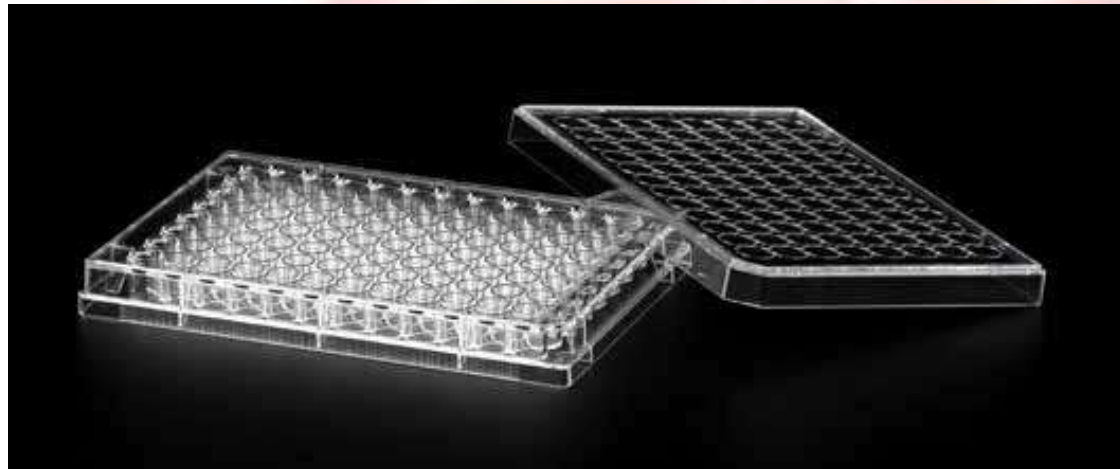
Não se usa mais.



Tipagem sanguínea em microplacas

Testes laboratoriais para tipagem sanguínea

Tipagem ABO – direta em microplacas



Tipagem sanguínea em cartão

Testes laboratoriais para tipagem sanguínea

Tipagem ABO – direta em cartão de centrifugação

- Maior sensibilidade
- Padronização na intensidade de aglutinação – leitura em cruces
- Menor contato com o sangue (biossegurança)
- Teste estável por 2 dias



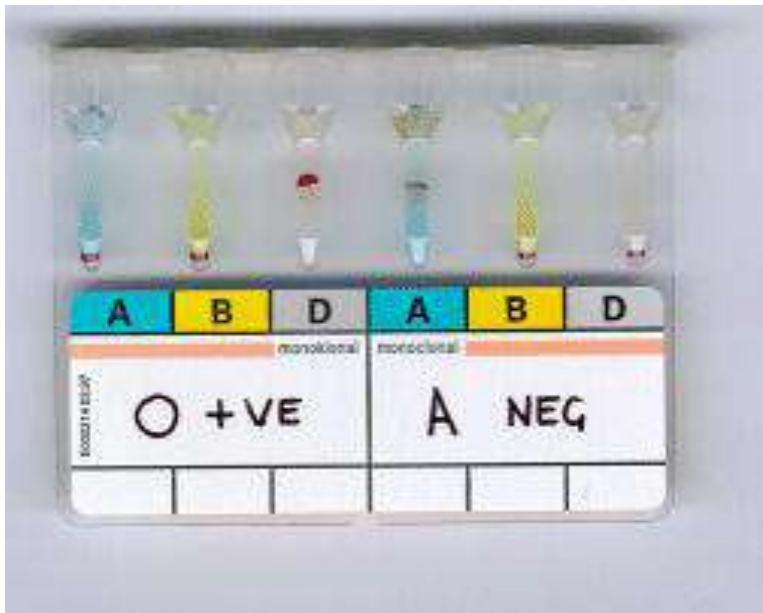
Escala de aglutinação – gel/cartão

Proporcional a quantidade de Ag formados.



Imuno-hematologia do doador

Tipagem ABO – direta em cartão de centrifugação



Resultado em +

Tipagem sanguínea reversa

Tipagem ABO – doador

- **Indireta (reversa)** – pesquisa a presença do **anticorpos naturais (regulares)**

Soro/plasma X hemácias a 5% fenotipadas (A1 e B)

Pode ser realizada em:

- **tubo**;
- **microplacas**;
- **gel de centrifugação** (cartão).

Tipagem sanguínea direta em tubo

Método realizado para todos os doadores/receptores de sangue.

Técnica

Material biológico: Sangue colhido com EDTA K2

Preparo da suspensão de hemácias a 5%

Lavar 3X as hemácias com solução fisiológica 0,9% (centrifugação 5 minutos a 1500 rpm).

1 mL de solução fisiológica 0,9% + 1 gota de sangue total (pipeta Pasteur)

Preparo dos tubos para tipagem direta

5 tubos identificados (A, B, AB, D e C);

Colocar 1 gota dos reagentes referidos a cima em tubo identificado;

Pipetar 1 gota da suspensão de hemácias 5% em cada tubo;

Centrifugar por 30 segundos a 1500 rpm;

Fazer leitura.

Resultados:

Negativo – quando não ocorrer aglutinação

Positivo – quando há aglutinação

Leucemias Linfóides

(Crônicas e agudas)

LLC/LLA

Leucograma

ERITROGRAMA

		Valor de Referência
Hemácias	4,73 milhões/mm ³	4,0 a 5,4
Hematócrito	41,1 %	36,0 a 48,0
Hemoglobina	13,8 g/dL	11,3 a 16,0
Vcm	86,9 fth	80,0 a 98,0
Hcm	29,2 pg	27,0 a 34,0
Chcm	33,6 g/dL	31,0 a 36,0
Rdw	12,2 %	10,5 a 15,5
Eritroblastos	0 /100 leuco	0

PLAQUETOGRAMA

	Valor de Referência
Resultado	1-145.000 /mm ³ 140.000 a 500.000

LEUCOGRAMA

	Relativos %	Absolutos /mm ³	Valor de Referência
Leucócitos		33.830	3800 a 10600
Mieloblastos	7	2368	0
Promielócitos	3	1.015	0
Mielócitos	0	0	0
Metamielócitos	1	338	0 a 100
Bastonetes	2	676	1 a 8
Segmentados	46	15.562	40 a 70
Neutrófilos	48	16.238	41 a 79
Eosinófilos	2	676	1 a 6
Basófilos	0	0	0 a 3
Linfócitos	33	11.165	18 a 40
Linf. Atípicos	0	0	0
Monócitos	6	2.030	2 a 10
Plasmócitos	0	0	0 a 100

(1) Ref. Fontes : Oski, Miale, Costa Vaz, Wintrobe, Tietz, Mod. p/ Araújo, Christensen RD et al. (2009), Gonçalves Jeter et al. (2010) e ABHH

Definições

Leucemia - ↑ na produção desordenada de leucócitos, por uma causa desconhecida.

Leucocitose - ↑ na produção de leucócitos por processo infeccioso.

Leucocitose fisiológica – recém nascido (18 a 25.000/mm³), gravidez, após o parto, exercícios musculares.

Leucocitose patológica – infecções e não infecciosa (lesões por fraturas, intoxicações por medicamentos e metais, desidratação).

Leucopenias - ↓ n^o de leucócitos, frequente em: depressão da atividade da MO (anemia aplástica), virose, desnutrição grave.

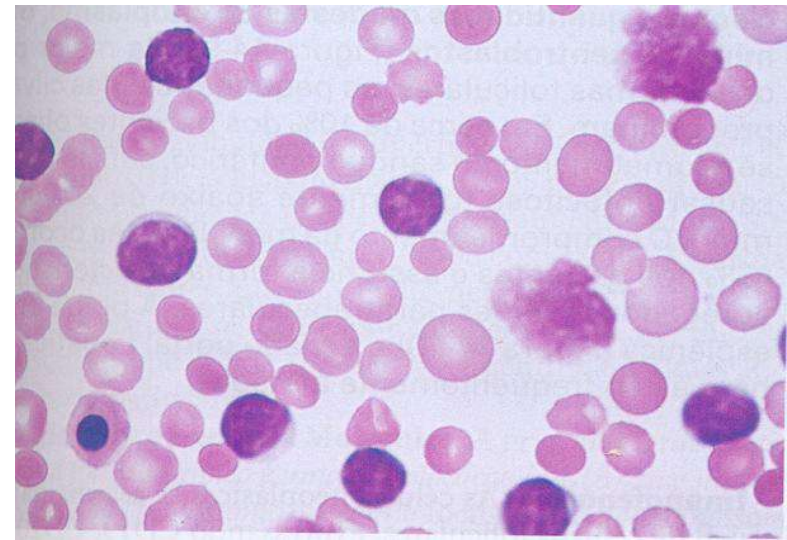
LEUCEMIAS

Classificação de acordo com o grau de diferenciação celular:

- aguda
- crônica

Classificação de acordo com o tipo celular:

- linfocítica
- mielóide



LEUCEMIAS LINFÓIDES CRÔNICAS

- **Proliferação de células da linhagem linfocítica**
- **Predominância de linfócitos maduros**
- **Podem infiltrar órgãos linfóides, gânglios, baço e medula óssea**
- **12 diferentes doenças**

CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO CLASSIFICAÇÃO DAS LEUCEMIAS LINFOCÍTICAS

Características:

- Morfológicas (sangue periférico e medula óssea);
- Imunofenotípicas;
- Citogenéticas / Alterações moleculares.

Exames adicionais: histologia da medula óssea,
gânglios linfáticos e baço (infiltração) / exame clínico

LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA (LLC)

LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA

LLC

- Proliferação clonal de linfócitos B maduros (90%)
raros de origem T
- Acúmulo de linfócitos pequenos

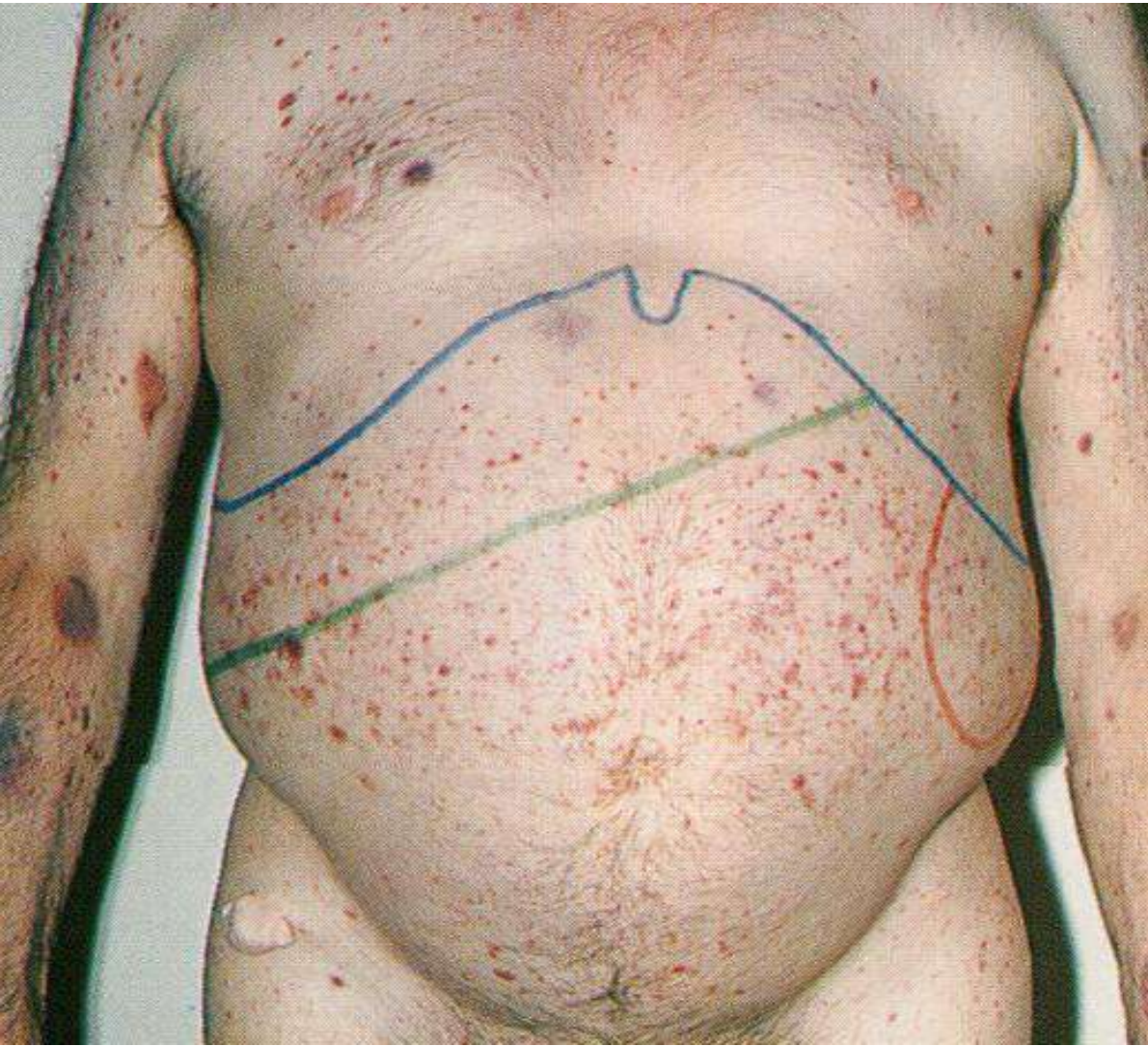
Quanto representa?

- 30% de todas leucemias
- 1.500 casos/ ano no Brasil

Quem acomete?

- Geralmente acima de 50 anos – Média de 65 anos
- Mais comum em brancos e sexo masculino

LLC – DIAGNÓSTICO



- 20% assintomáticos
- Púrpura
- Hepatomegalia
- Esplenomegalia

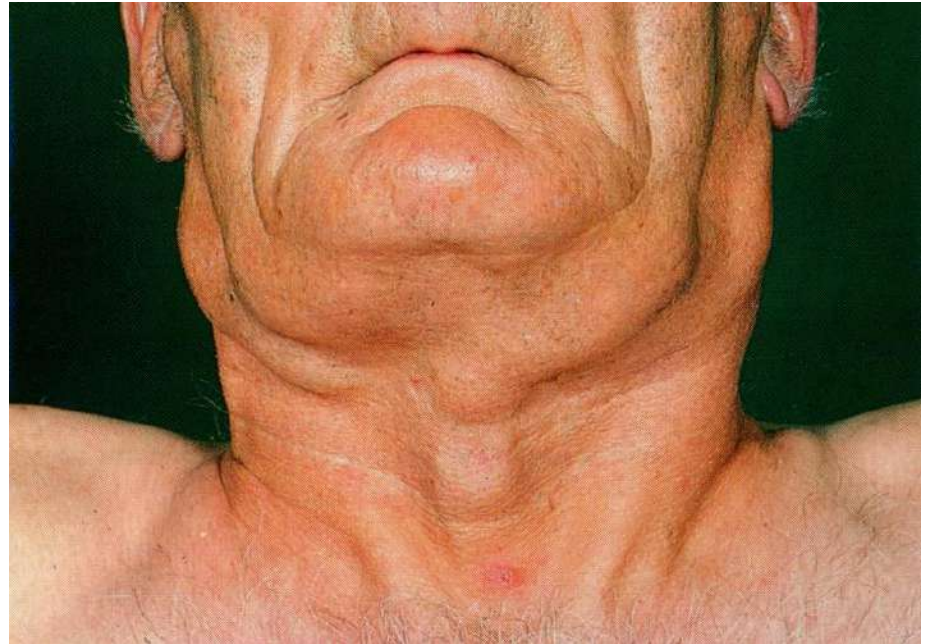
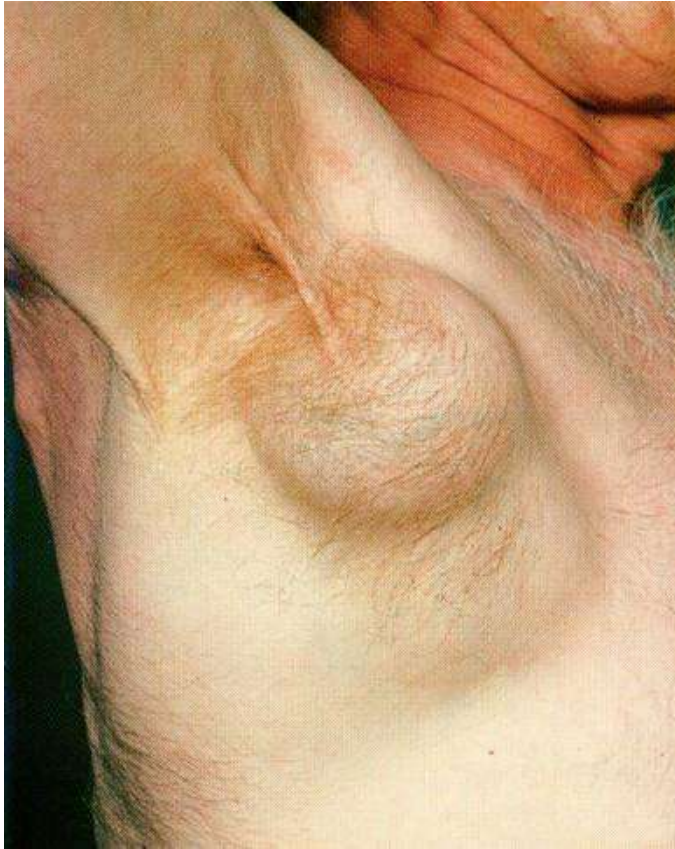
GB: ↑

Linfócitos: ↑

Plaq: ↓

Hb: ↓

LINFOADENOPATIA



PATOGENESE

Exposição a fatores ambientais – pouca correlação

Fatores Hereditários – aumento de 3 x mais a prevalência

***Fatores Genéticos:**

Deleções cromossômicas

Inversões cromossômicas

Trissomias

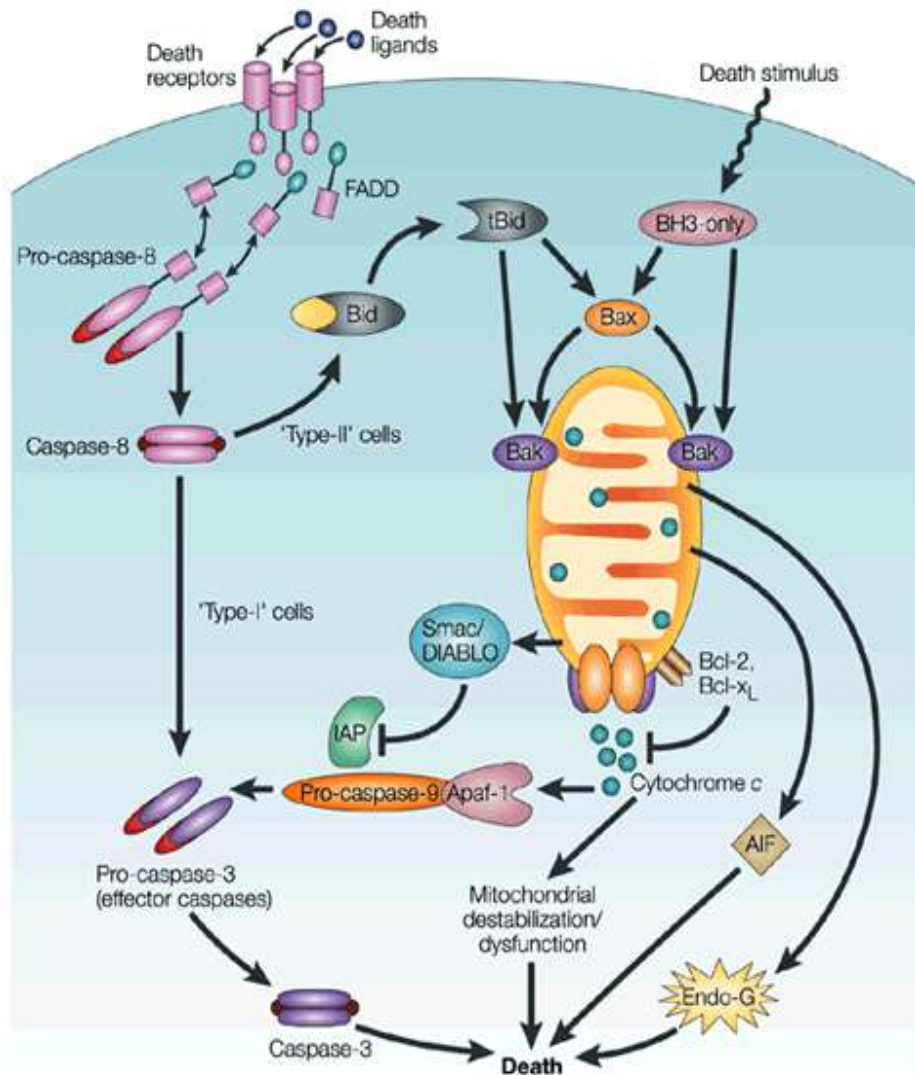
***Consequências:**

Mutações em P53

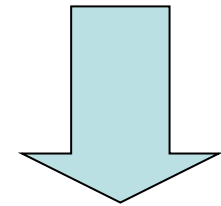
↑ proteína BCL-2

**Inibição
apoptose**

PATOGENESE



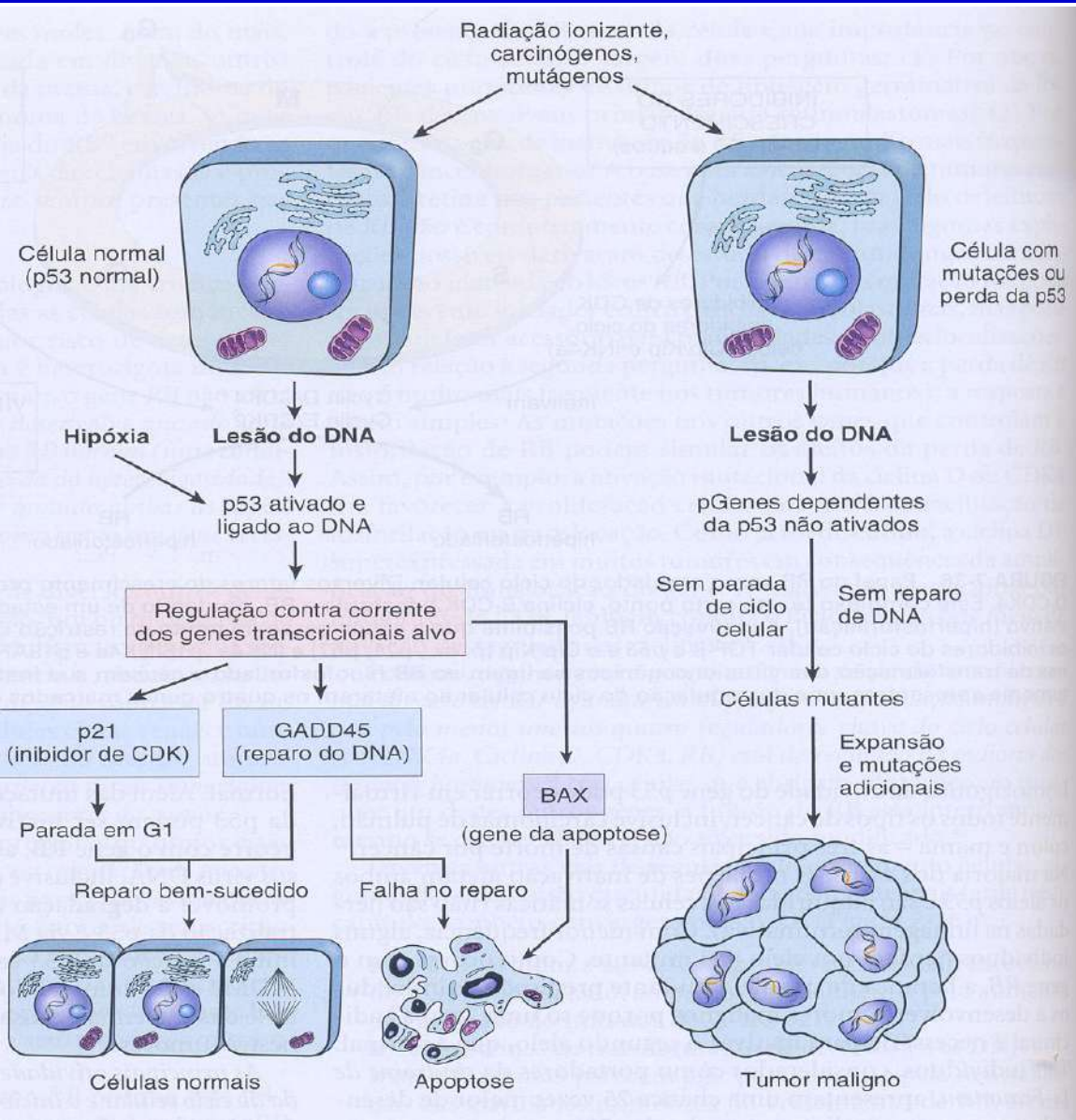
proteína BCL-2
controla apoptose



Efeito anti-apoptótico
(inibe a apoptose)

BCL-2 é super expressa na LLC

PATOGENESE



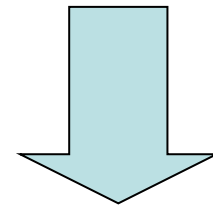
Mutação p53

Reparo do DNA

Ativa BAX – apoptose

Ativa p21 – para ciclo

GADD 45 – reparo



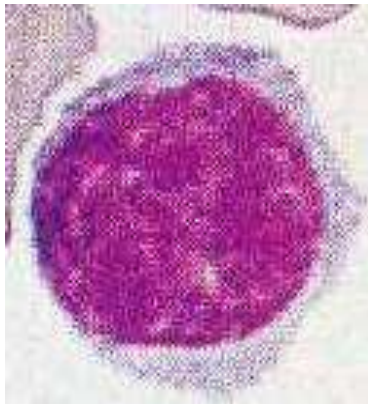
Expansão de célula mutada

ACÚMULO CELULAR

Aumento da sobrevivência dos Linfócitos

INIBIÇÃO DA APOPTOSE

Proliferação ↑



CD5+



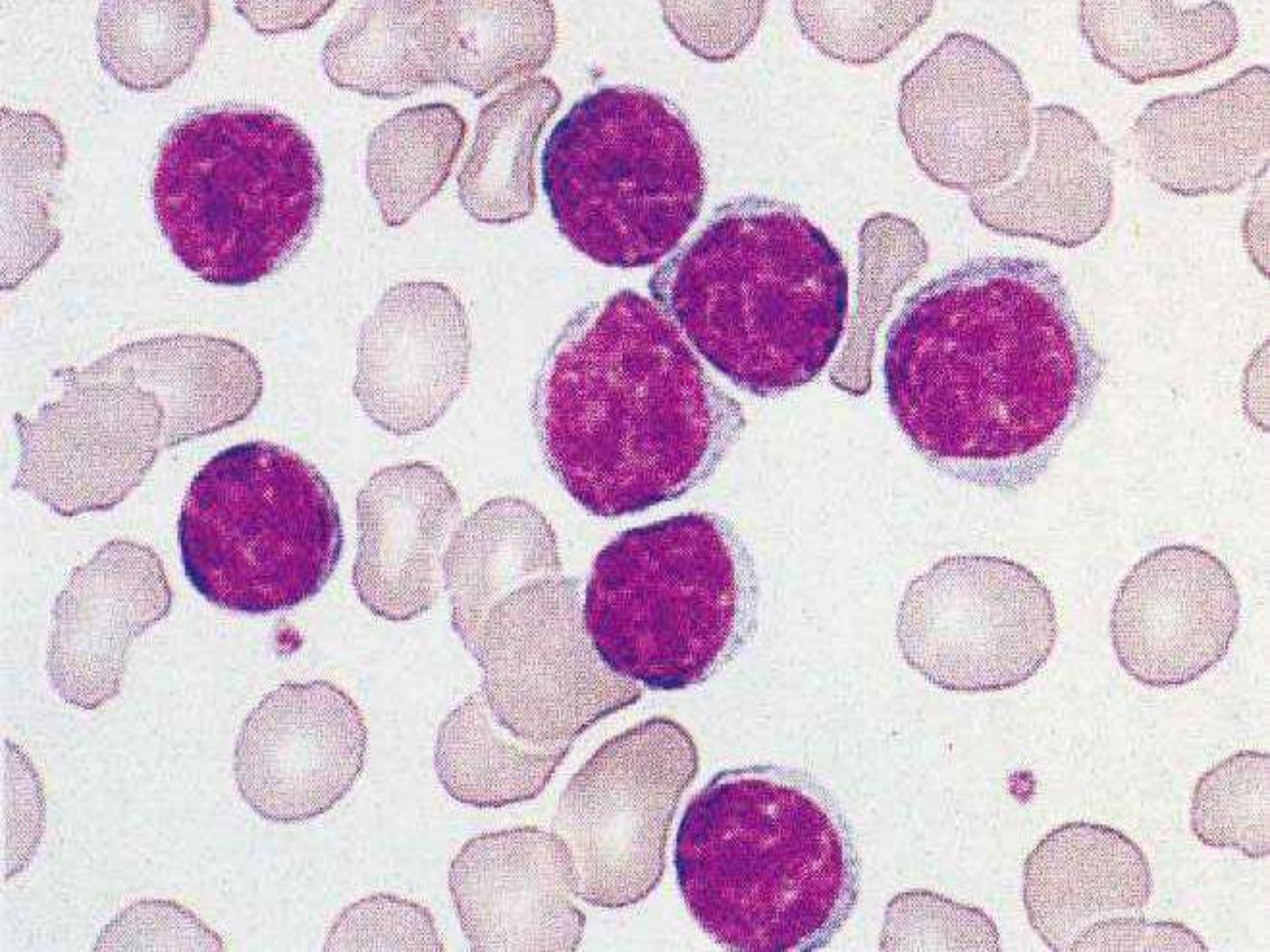
**Acumulo de Linfócito B
com CD5+**

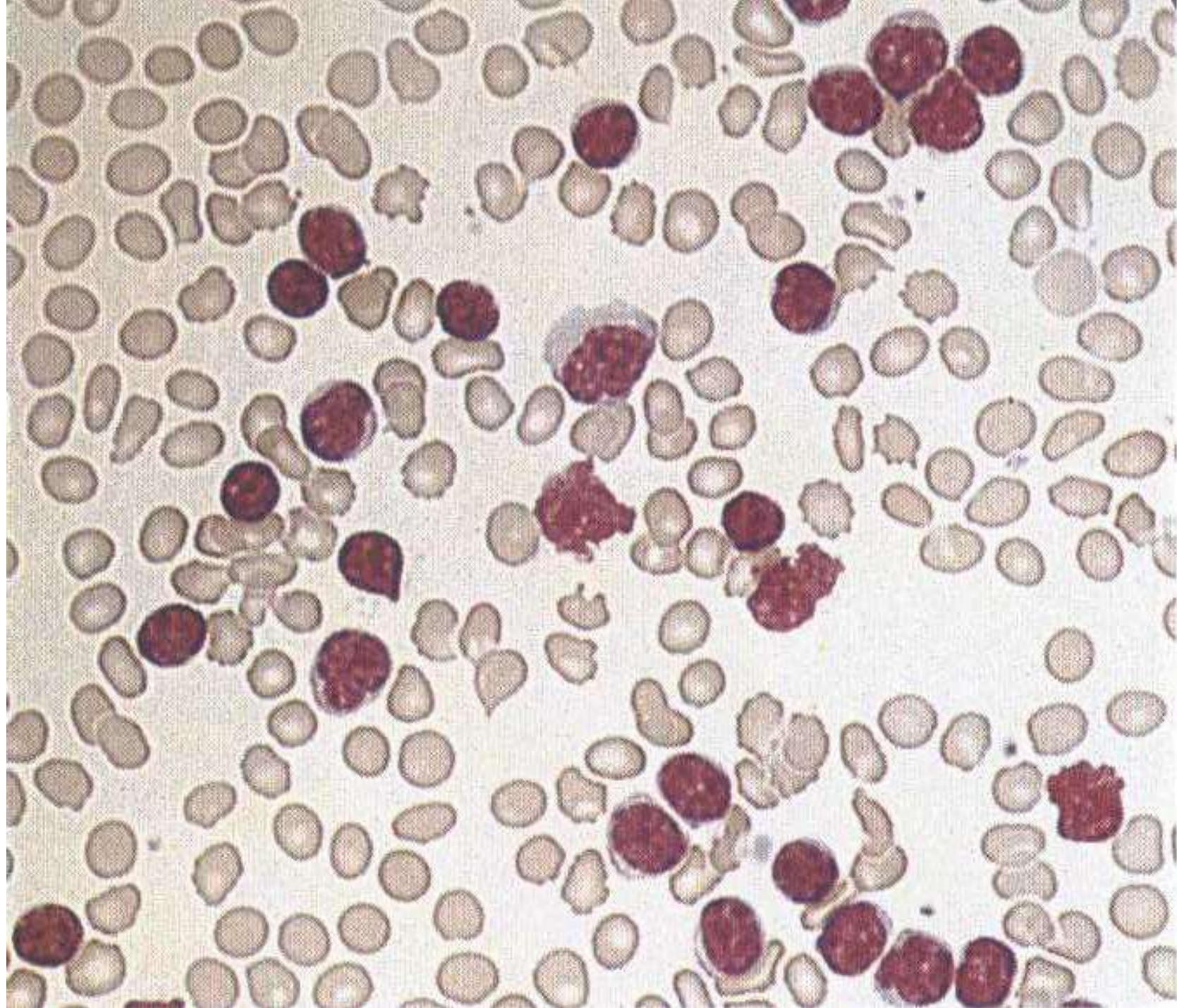
Citometria de fluxo -
imunofenotipagem

CONFIRMAÇÃO LABORATORIAL

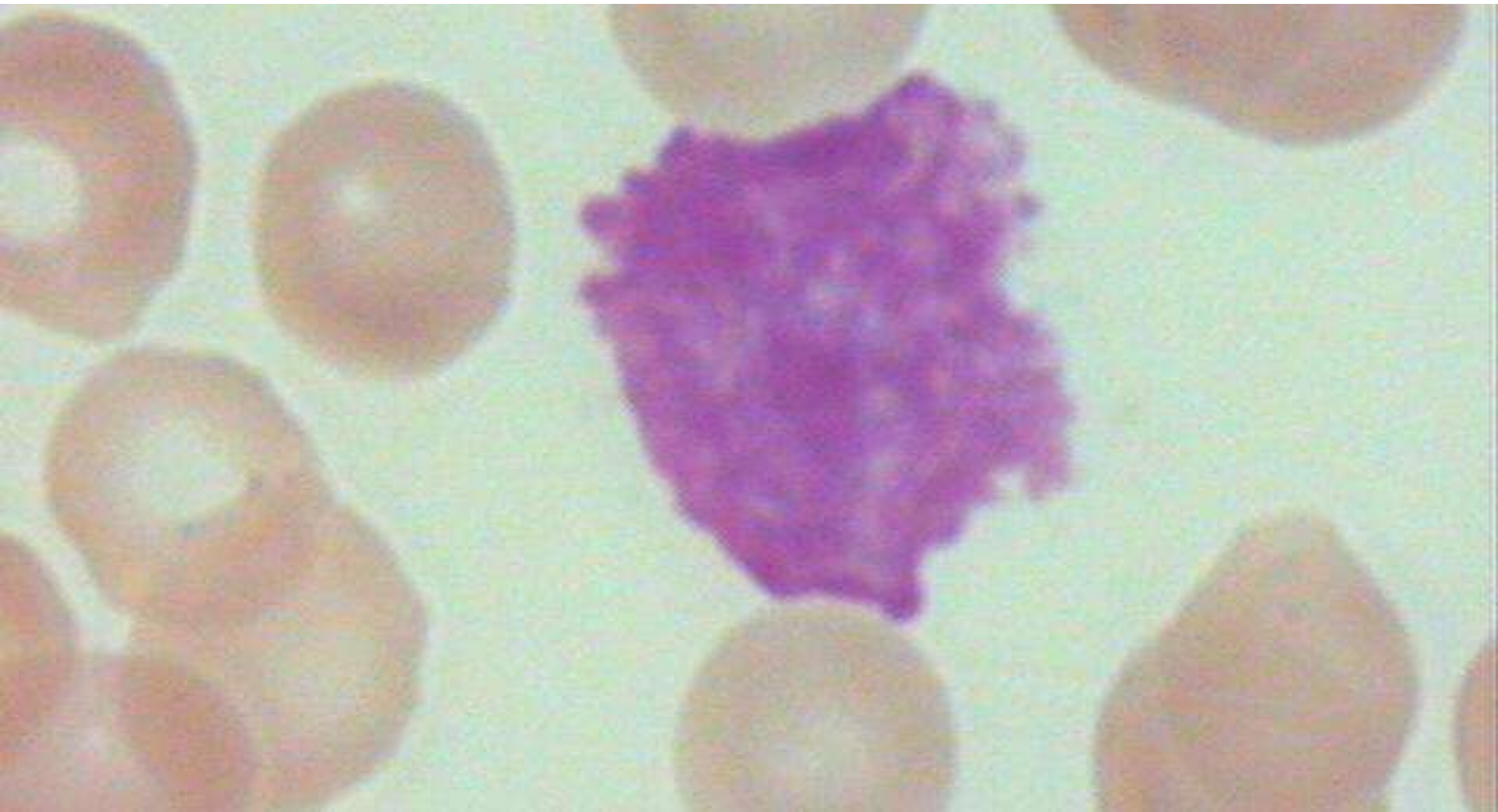


- **Hemograma: Variável com o estágio da doença**
- **Linfocitose**
- **Medula Óssea: > 30% de linfócitos clonais**
- **Imunofenótipo: **CD19+/CD20+/CD23+ e CD5+****

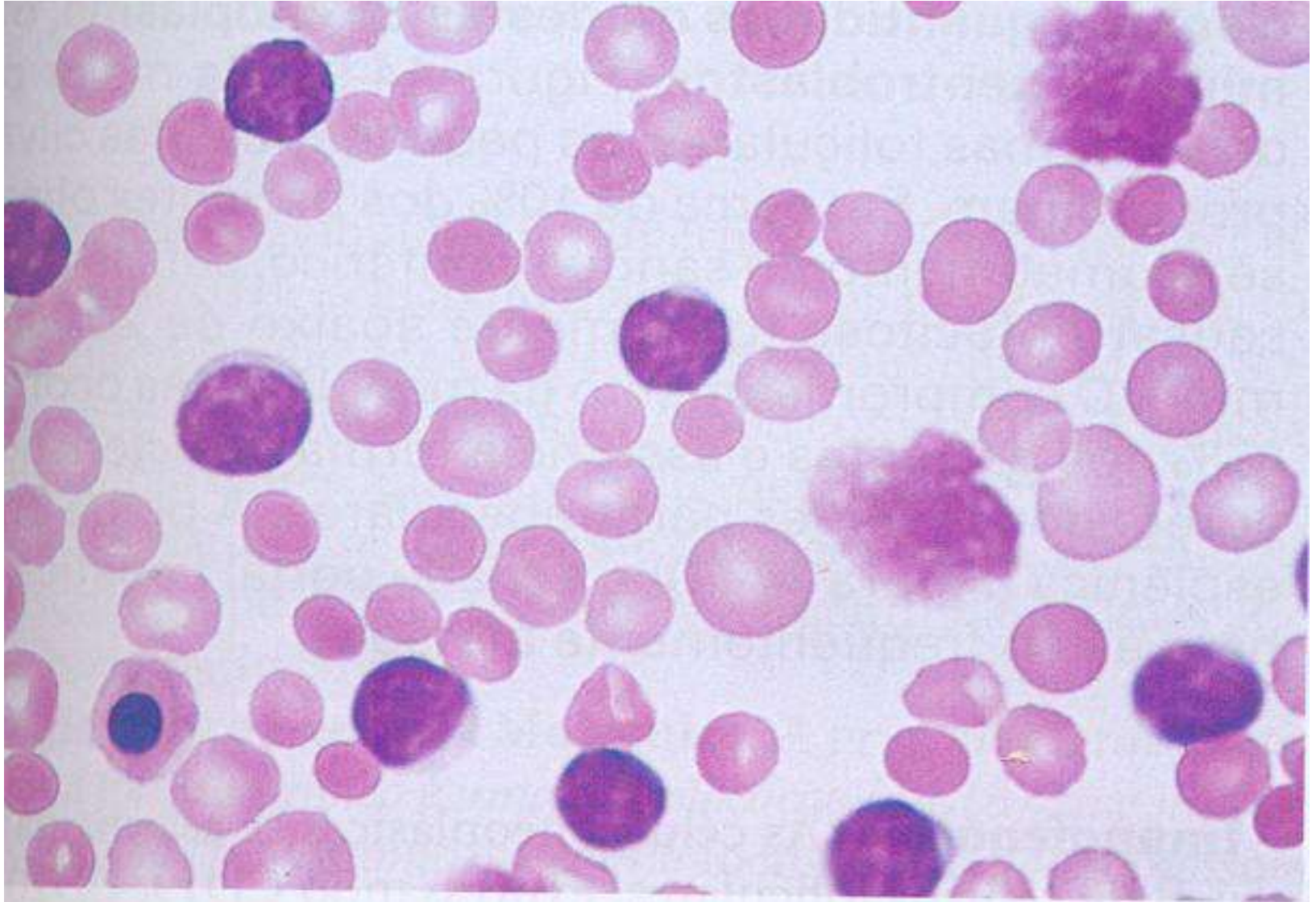




SOMBRA DE GRUMPECHT



SOMBRA DE GRUMPECHT



Tratamento - LLC

Pacientes assintomáticos

- Acompanhamento/monitoramento de 6 em 6 meses – sem tratamento.

Tratamento

- Quimioterápico – Clorambucil / Fludarabina
- Ac monoclonais – Alemtuzumab
- Associação quimioterápica – Ciclofosfamida e Fludarabina

Linfoma de células T do Adulto

Associação viral → HTLV 1

Paraparesia Espástica Tropical – vírus linfotrópico de cél.T humanas

(Desmielinização de neurônios)

Prevalência: 40 a 50 anos

Incidência alta do vírus HTLV 1



Japão
África

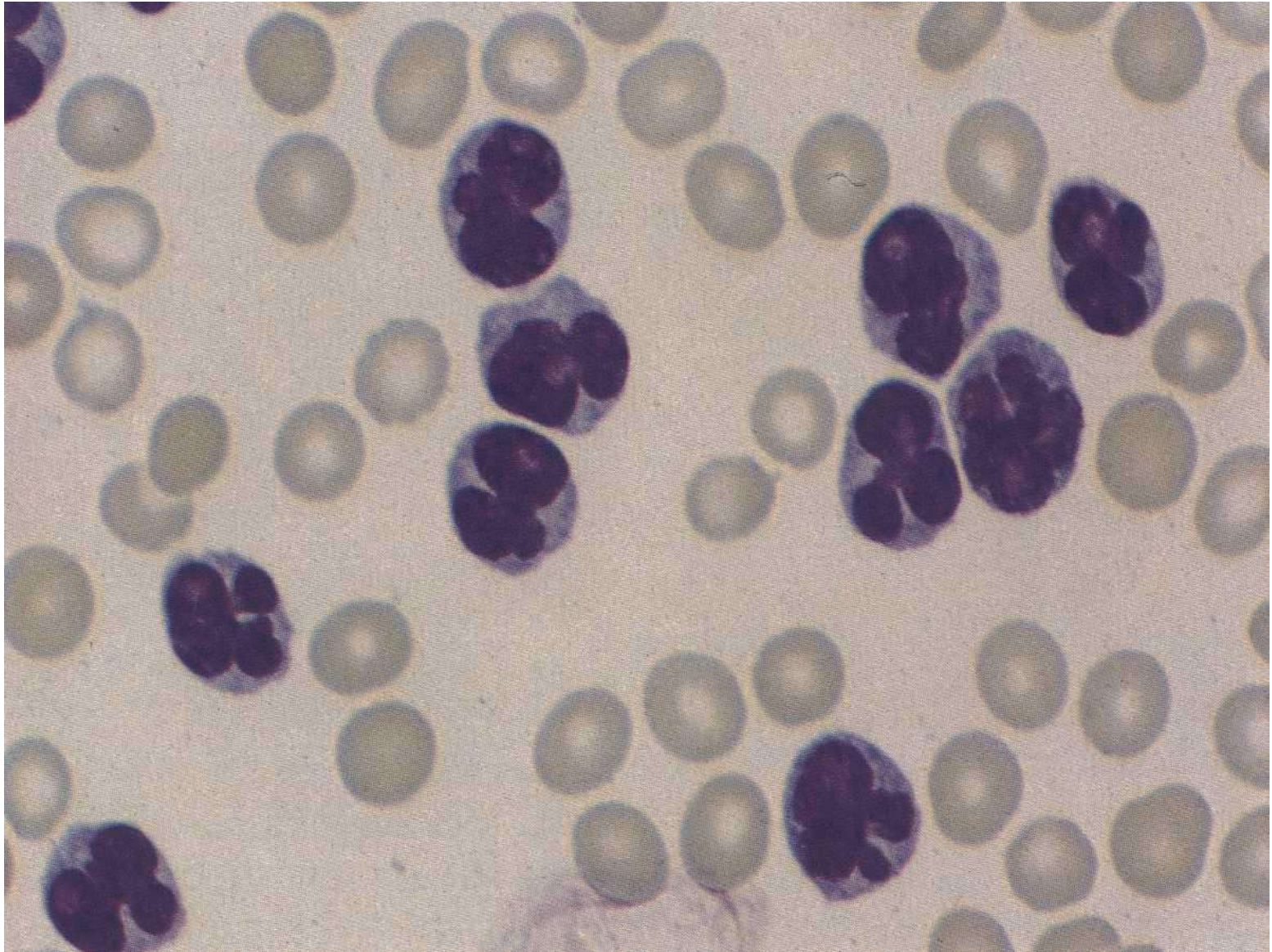
Brasil – 05 a 1,5%

10 a 80% de cel. tumorais: CD4+, CD3+

“Flower Cells”

“Flower cells”

Núcleo polilobulado e irregulares;
Aspecto de trevo ou flor



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA



LLA

Leucemia Linfocítica Aguda

Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

LLA – 75 a 80% acometem crianças (incidência de 2 a 5 anos)

Classificação da FAB

LLA - FAB

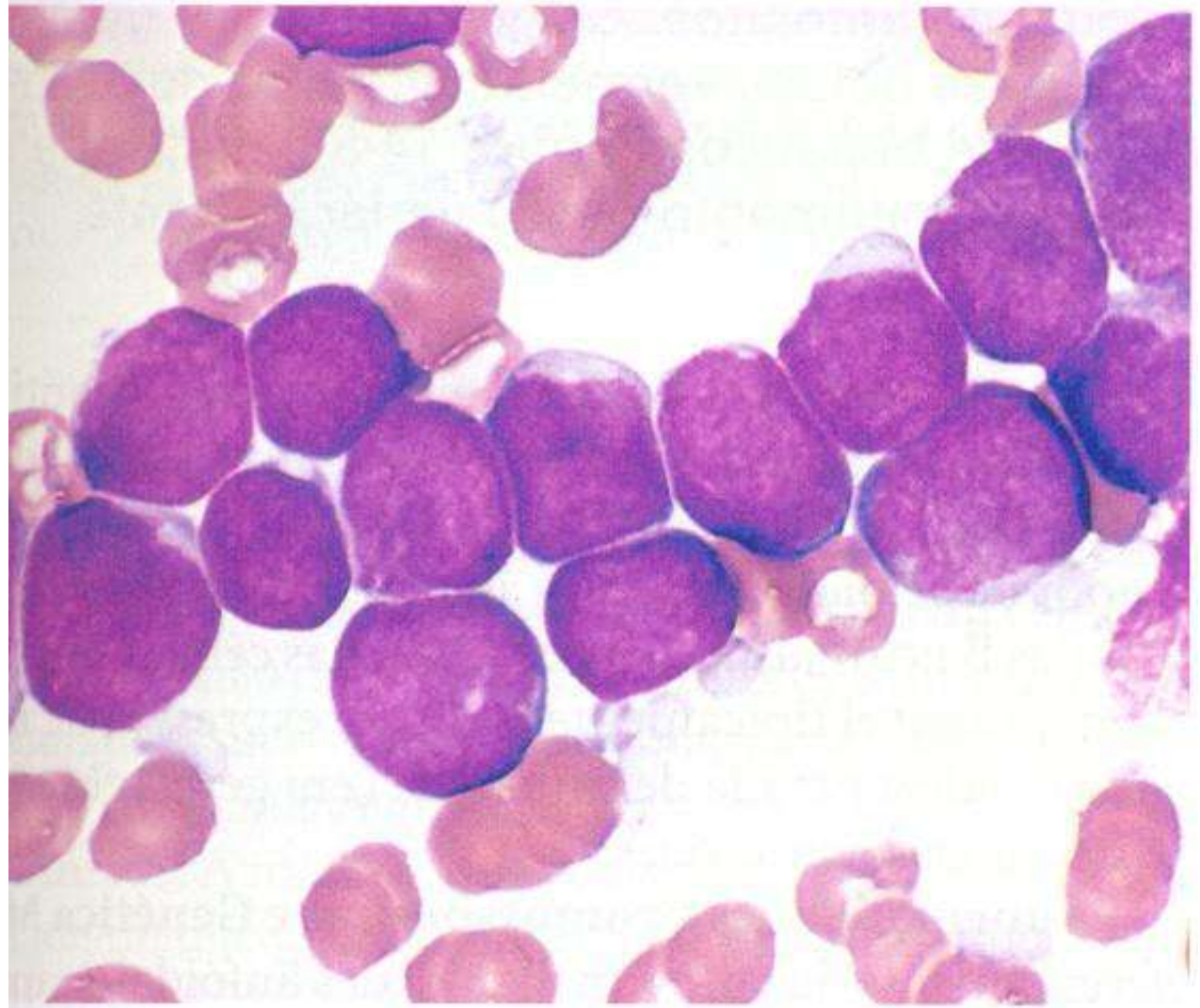
L1: blasto pequeno e regular, nucléolo pouco visível, pouco citoplasma.

L2: célula maior com nucléolo evidente, citoplasma moderadamente abundante

L3: célula grande com microvacúolos e nucléolos evidentes.

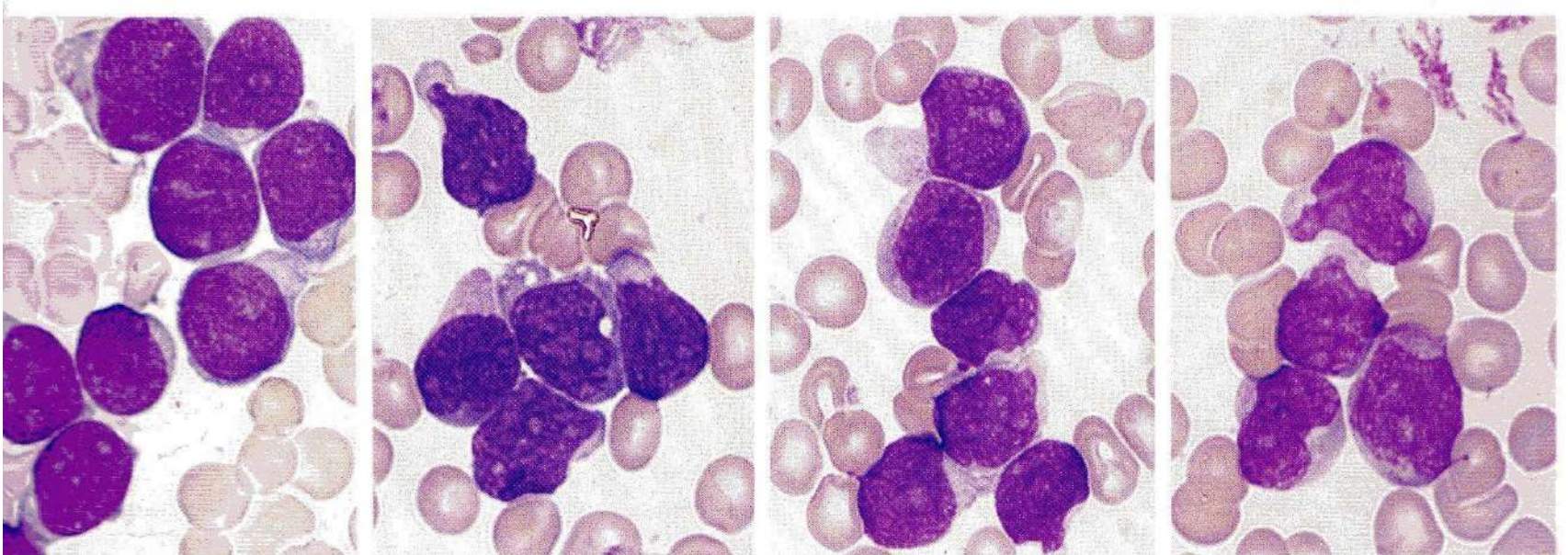
Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

LLA-L1



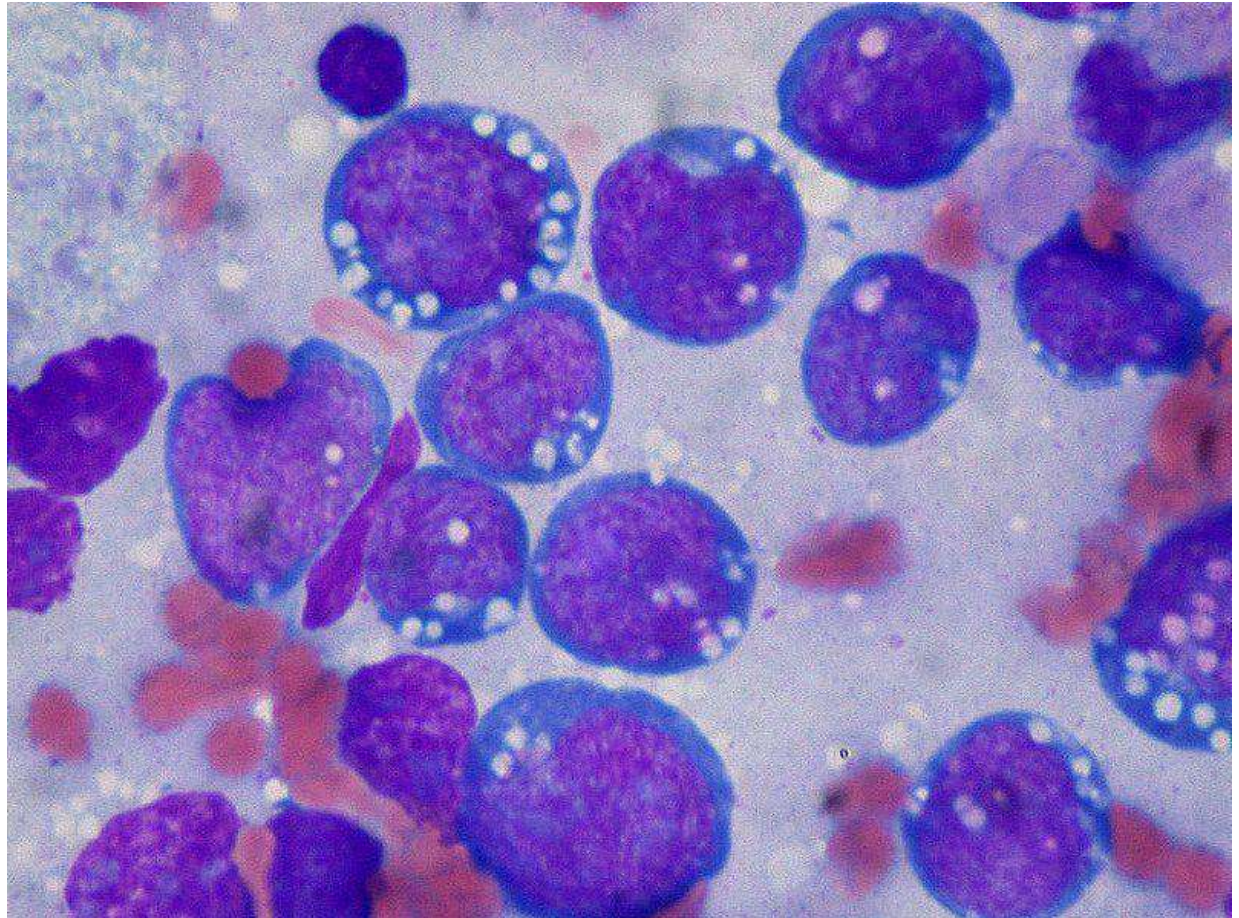
Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

LLA-L2



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

LLA-L3



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA



Diferenciação da LLA

morfologicamente indistinguível

Imunofenotipagem

blastos de **células B** - CD19/ CD79/ CD10/CD22

blastos de **células T** - CD1/CD2/CD7

Citogenética – alterações cromossomais

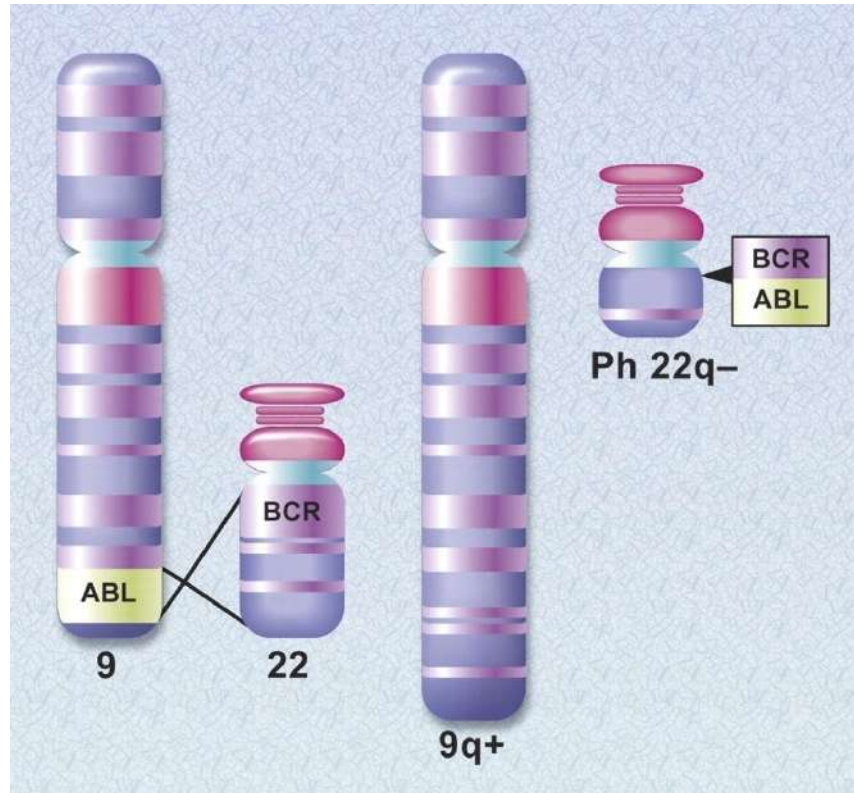
Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

Alterações genéticas da LLA

- **t(9;22)** – conhecida como Cromossomo Philadelphia (**Ph**) – resultante do gene híbrido **BCR-ABL**.

Gene BCR – divisão celular

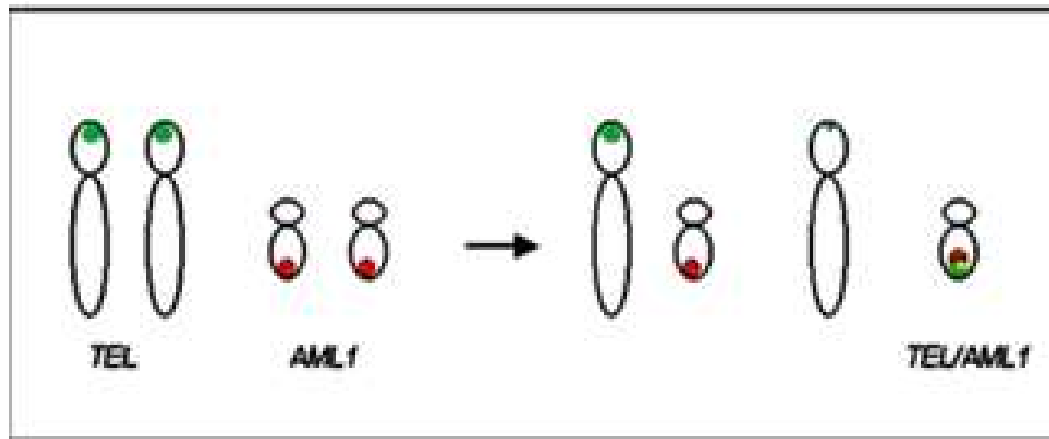
Gene ABL – regula sobrevivência



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

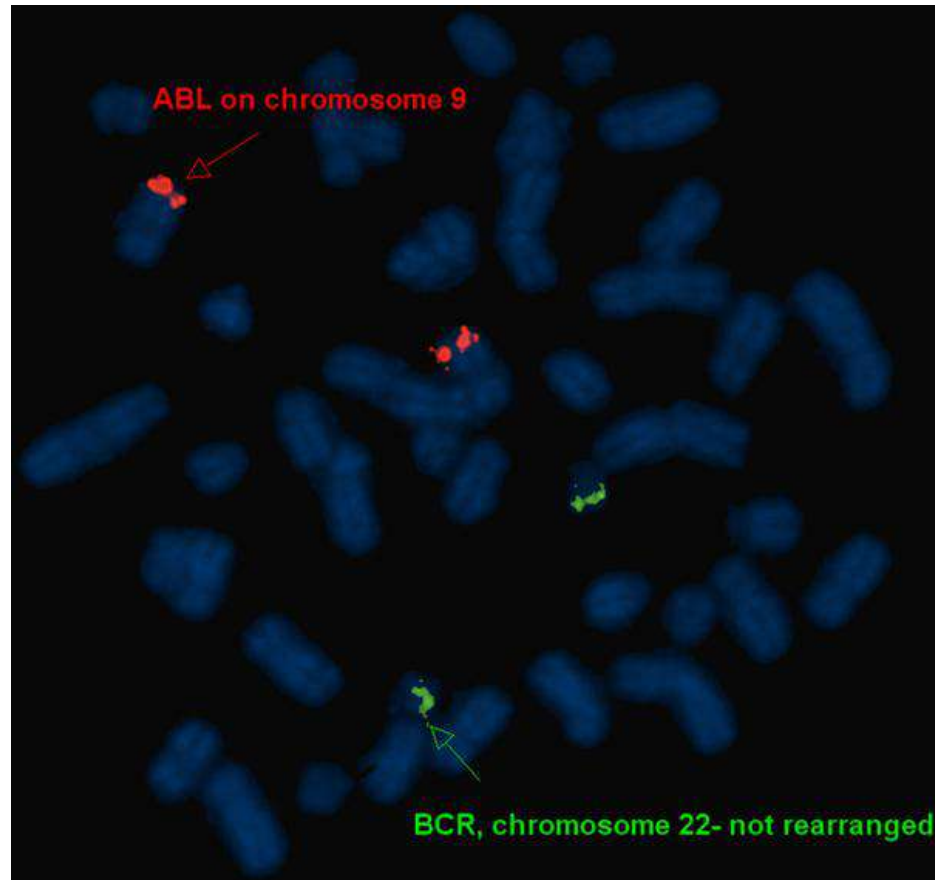
Alterações genéticas da LLA

- **t(12;21)** – resultante do gene híbrido **TEL/AML1** - inibi a atividade do gene AML1 (fator de transcrição que promove a diferenciação celular).
Atinge linhagem B (L1/L2) – ótimo prognóstico.
Incidência de 20 a 30% em crianças com LLA



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

Técnica de FISH (hibridização *in situ* por fluorescência) – permite identificar a presença, ausência, quantidade ou localização do segmento cromossômico específico.



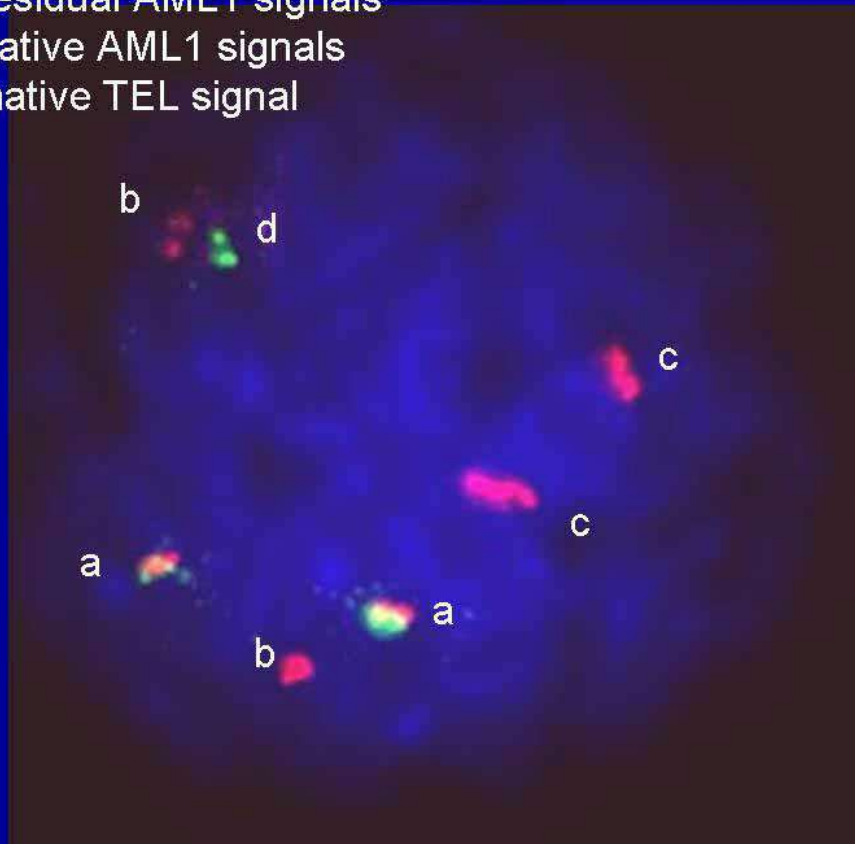
Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

TEL-AML1

FISH

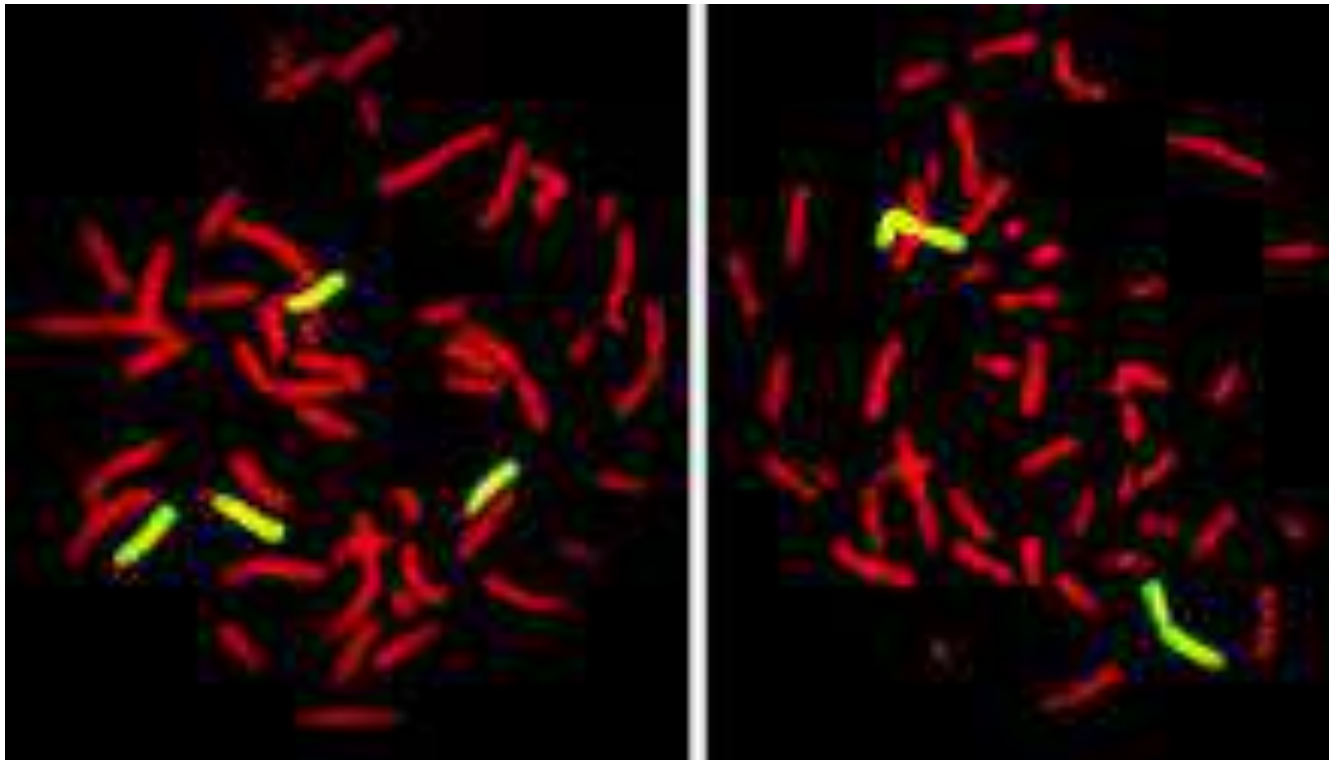
- a : two fused red/green TEL/AML1 signals
- b : two residual AML1 signals
- c : two native AML1 signals
- d : one native TEL signal

E



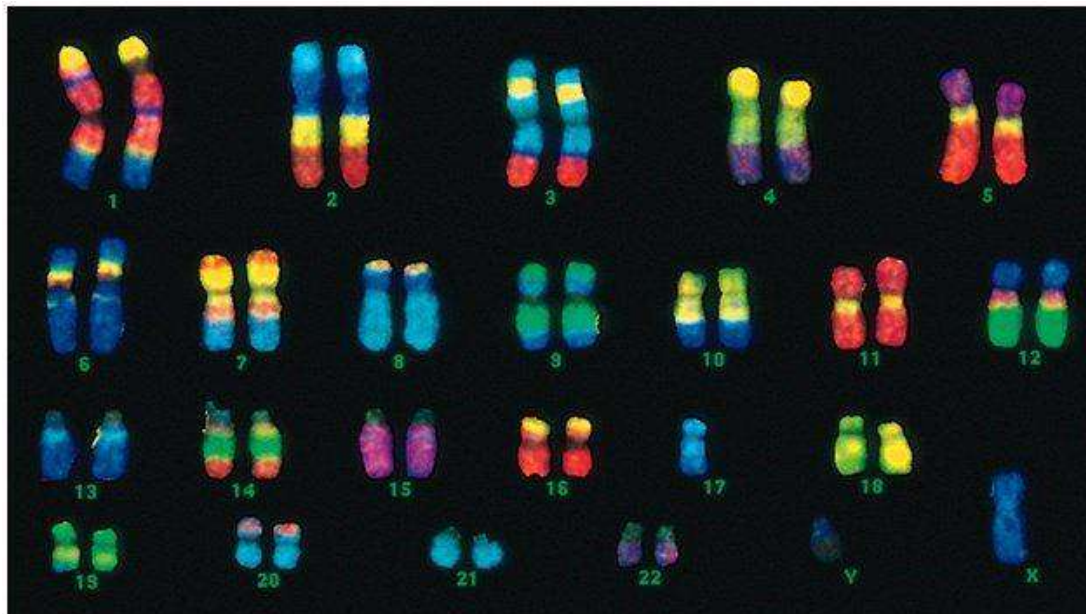
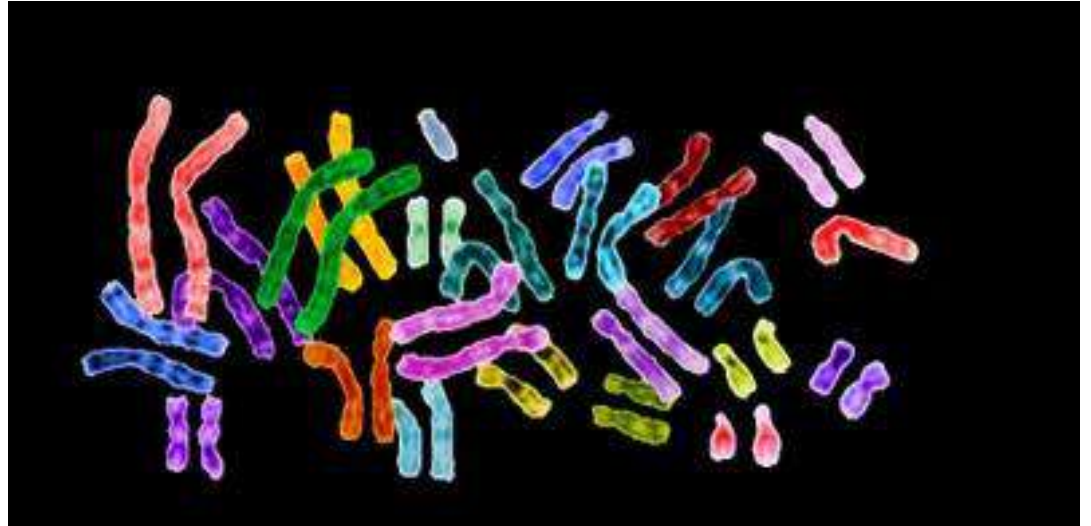
Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

FISH



Leucemia Linfocítica Aguda - LLA

FISH

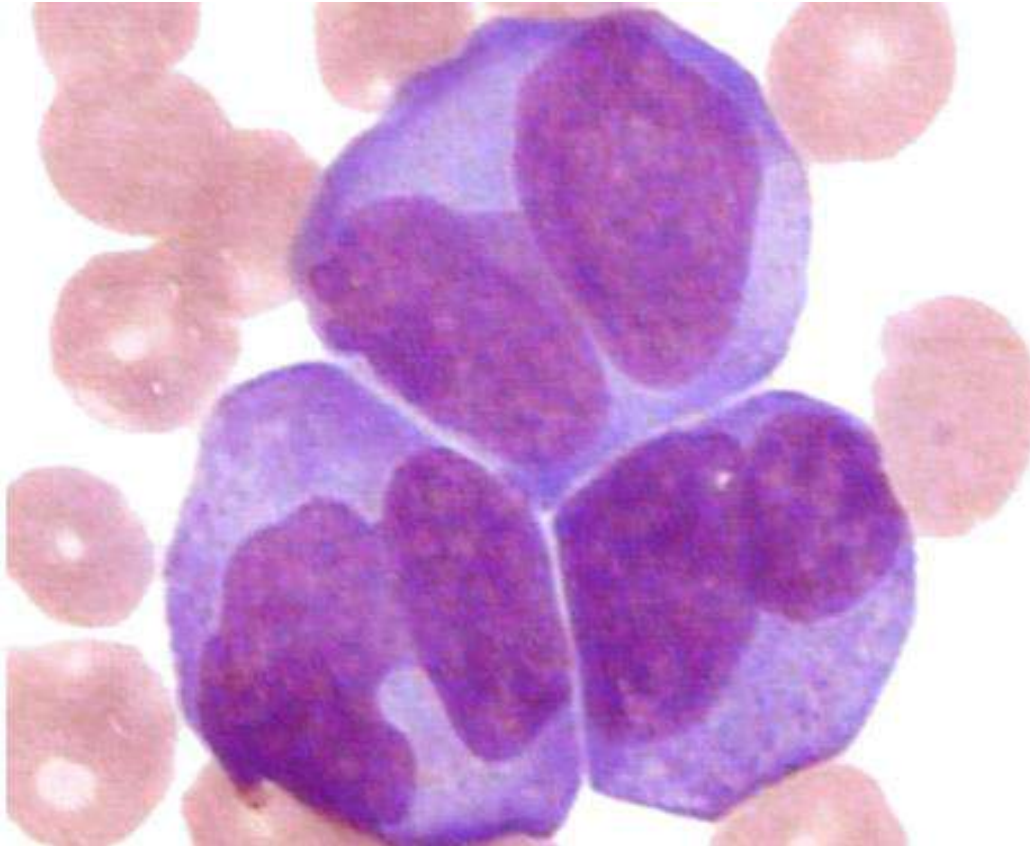


Caso clínico

Hemograma

- GV: 3.600.000/mm³
- Ht: 30%
- Hb: 9 g/dl ←
- VCM: 83
- HCM: 25
- GB: 30.800/mm³ ←
- Neutrófilos: 6%
- Linfócitos: 90% ←
- Monócitos: 4%
- Plaquetas: 90.000 /mm³ ←
- OBS: presença de sombras de Grumpecht. ←





Leucemias Mielóides

(Agudas)

LMA

Lecemia - CLASSIFICAÇÃO

Classificação de acordo com o grau de diferenciação celular:

- aguda
- crônica

Classificação de acordo com o tipo celular:

- linfocítica
- mielóide

EXAMES-CLASSIFICAÇÃO

- MORFOLOGIA E CITOQUÍMICA
- IMUNOFENOTIPAGEM
- **CITOGENÉTICA**



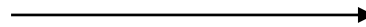
Comportamento clínico e resultados evolutivos precisavam ser incorporadas

ETIOLOGIA

- **Maioria Desconhecida**

Agentes externos:

- **Radiação ionizante**
- **Quimioterapia**
- **Benzeno e petróleo**



- **Lesão DNA**
- **Alteração citogenética**

- **Fatores predisponentes:**

- **Mutações somáticas e alteração citogenética**
- **Trissomia (Ex: Down)**

CLASSIFICAÇÃO FAB LMA

- ✓ Dividi-se de M0 a M7
- ✓ M0 e M7: imunofenotipagem é essencial
- ✓ Bifenotípica: coexpressão de marcadores linfóides e mieloides (raras)

CLASSIFICAÇÃO FAB LMA

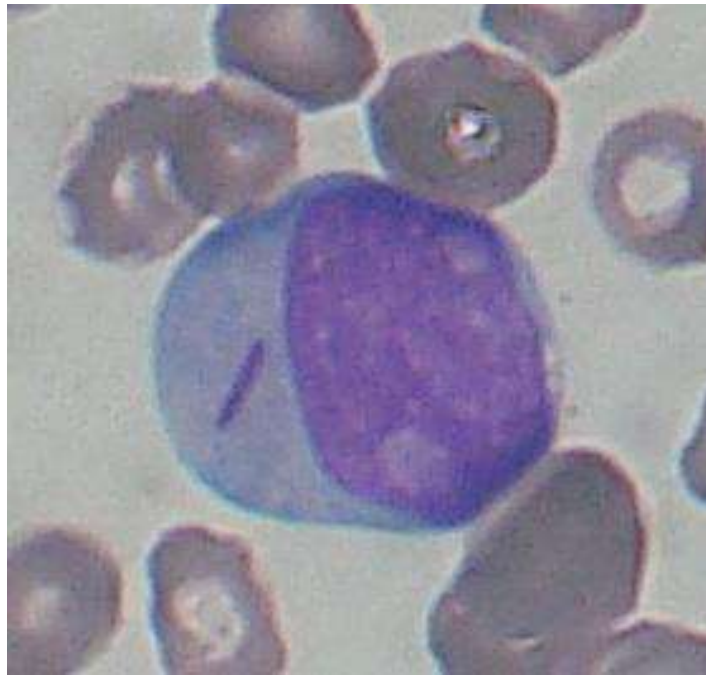
LMA – FAB

- M0 - mieloblastos** (sem maturação)
- M1 - mieloblastos** (sem maturação, bastonetes de Auer)
- M2 - mieloblastos** (maturação parcial, bastonetes de Auer)
- M3 - pro-mielocítica** (+ bastonetes de Auer)
- M4 - mielomonocíticas**
- M5 - monocítica**
- M6 - eritroleucemia**
- M7 - megacariocítica**

característica: Bastonetes de Auer

CARACTERÍSTICA - LMA

Bastonete de Auer - lisossomos



Aspectos Laboratoriais

- Anemia
- Trombocitopenia
- Neutropenia
- Mieloblastos
- Leucometria – 100.000/mm³ (80% dos pacientes)

Alterações genéticas

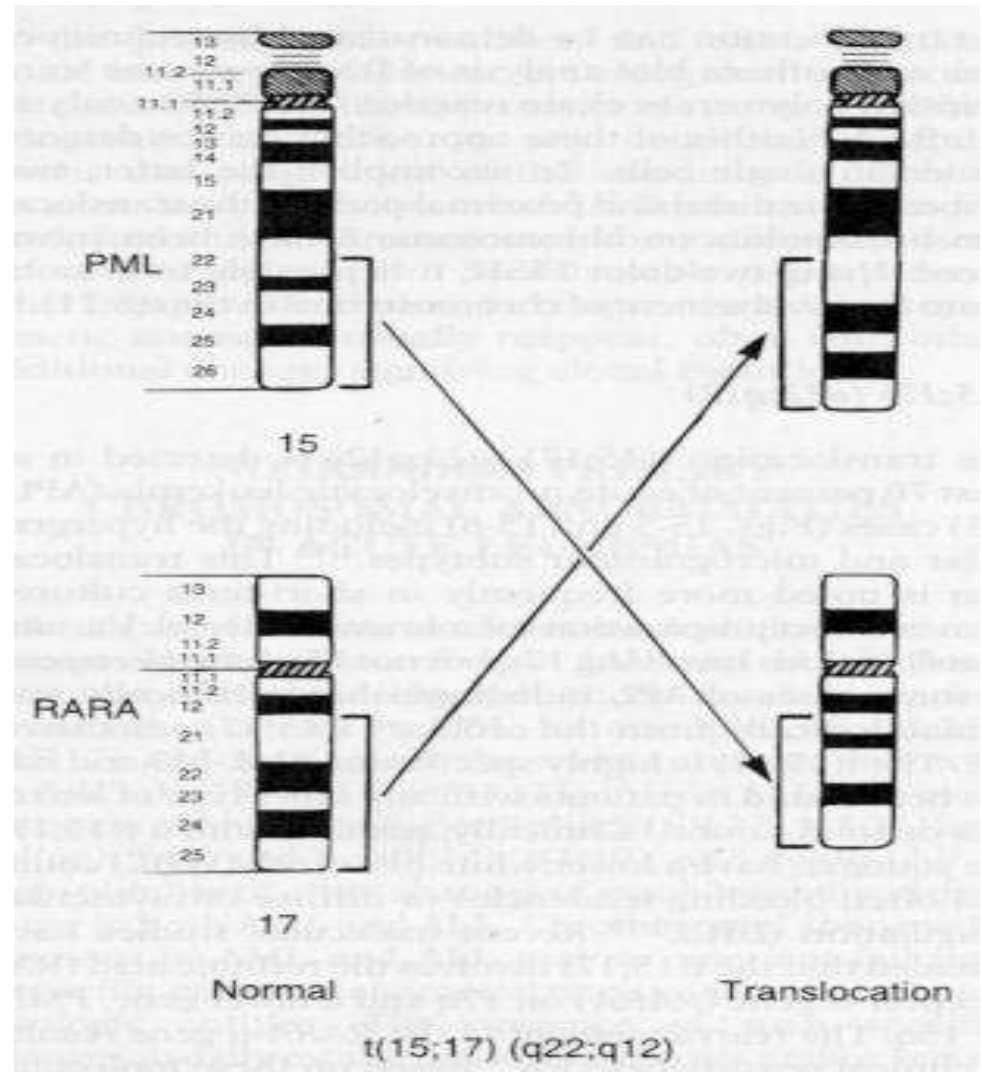
**Leucemia promielocítica (LMA-M3) –
t(15;17)**

Alterações genéticas

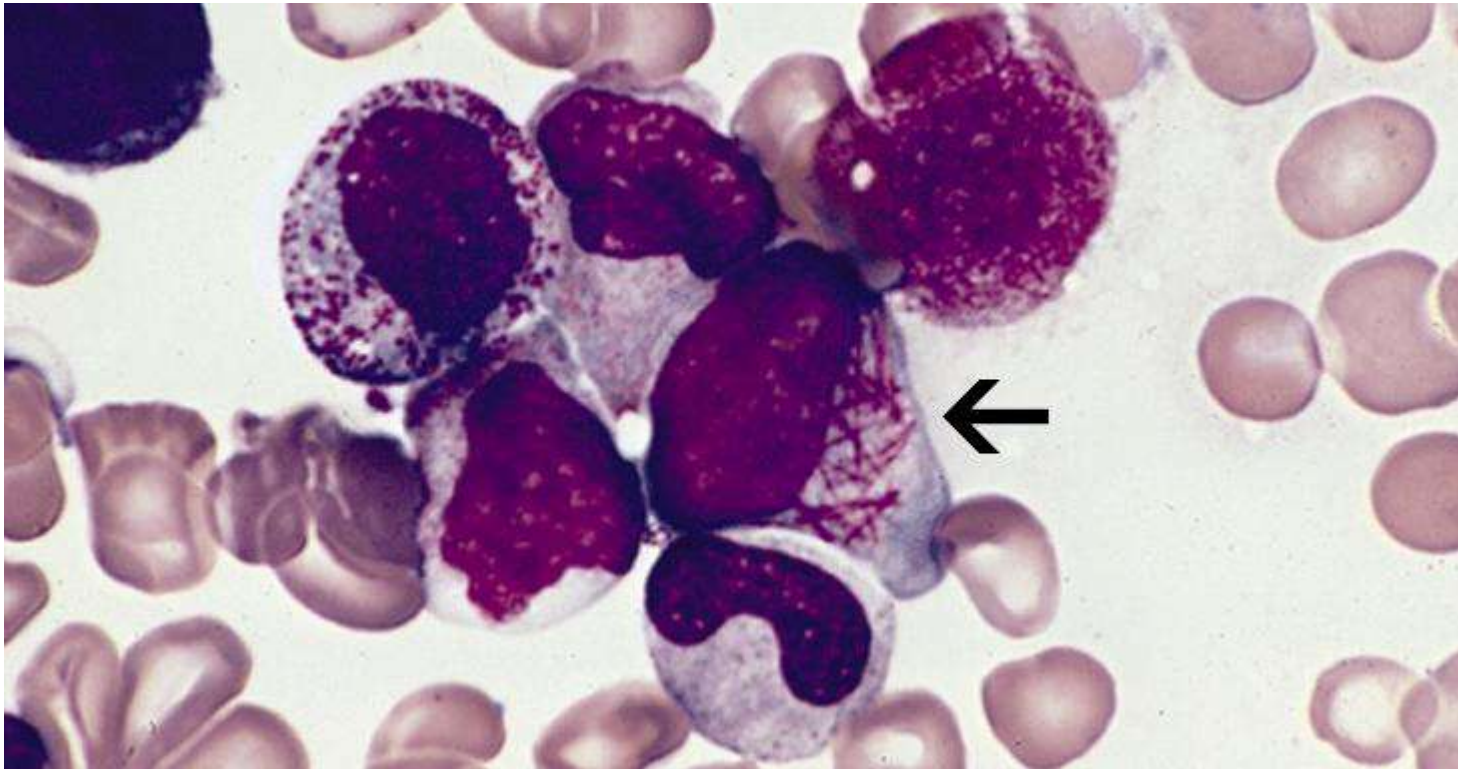
INIBIÇÃO DA
DIFERENCIAÇÃO/APOPTOSE

**GENE HÍBRIDO
PML/RAR α**

apoptose maturação celular



LMA-M3



Faggot Cell (cél. com feixes)

Alterações genéticas

**Leucemia promielocítica (LMA-M2) –
t(8;21)**

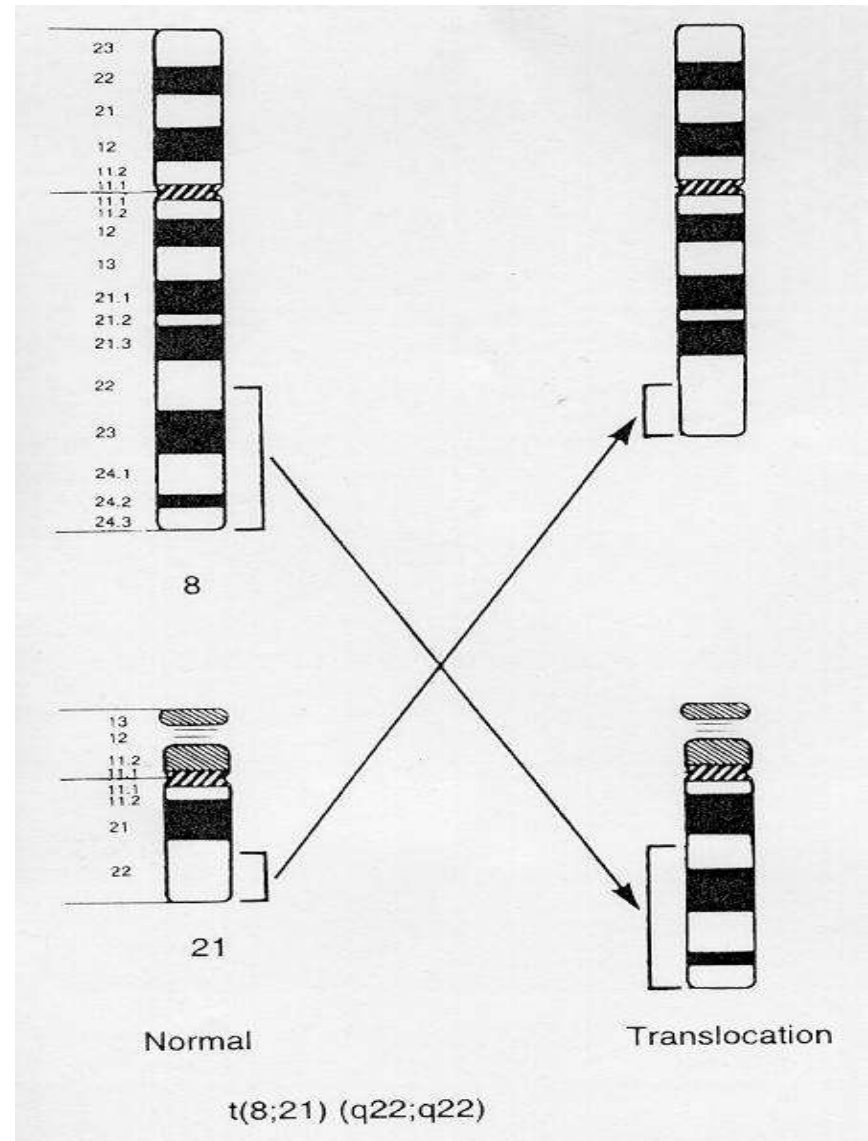
Alterações genéticas

INIBIÇÃO DA
DIFERENCIAÇÃO/APOPTOSE

**GENE HÍBRIDO
ETO/AML 1**

↓
produção

↓
maturação celular



LMA-M2



FATORES PROGNÓSTICOS PARA EVOLUÇÃO CLÍNICA EM PACIENTES COM LMA

MELHOR PROGNÓSTICO

PIOR PROGNÓSTICO

FAB M2, M3, M4

FAB M0, M1, M5, M6, M7

t(8;21)

t(9;22)

t(15;17)

del (5q); - 5

Inv (16); del (16q)

- 7; del (7q)

Cariótipo normal

12p anormal; trissomia 8

Pacientes jovens (< 45 anos)

Pacientes(< 2 anos) e (>60 anos)

Não ter acometimento do SNC

Acometimento do SNC

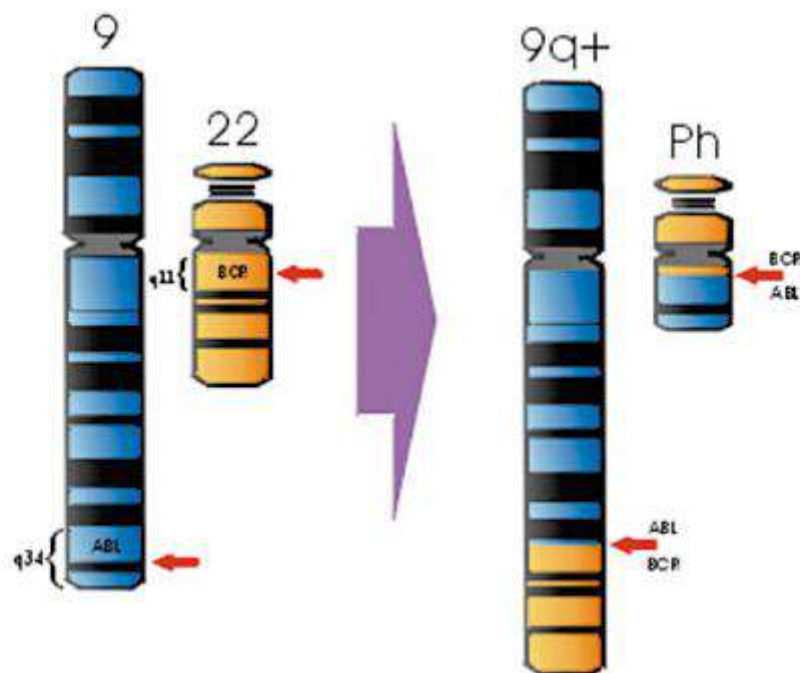
**Baixa Leucometria
($< 25.000 / \text{mm}^3$)**

**Alta Leucometria
($> 100.000 / \text{mm}^3$)**



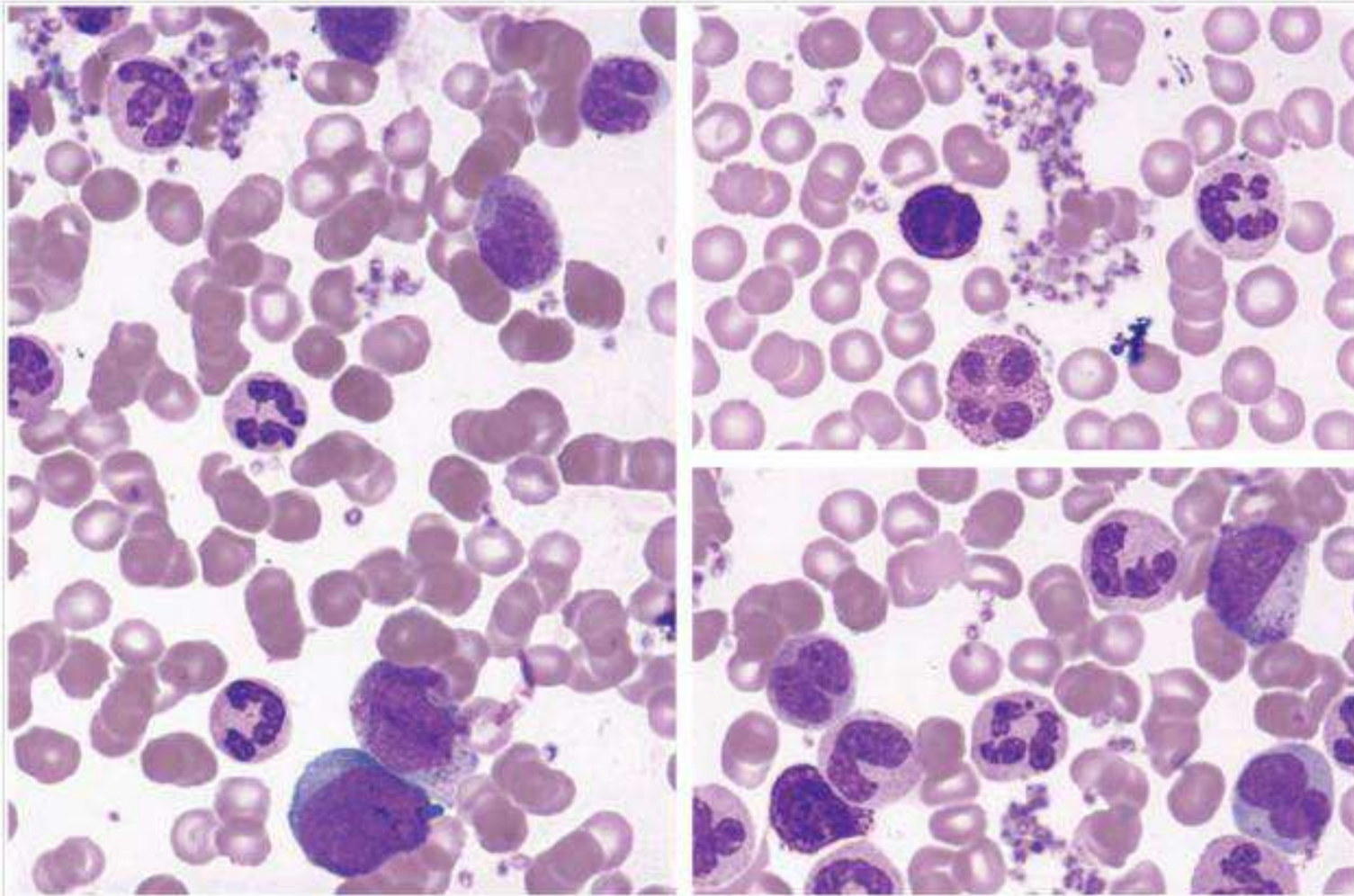
gene híbrido BCR-ABL

Ativa a via de sinalização STAT5 (↑proliferação) e diminui a expressão de BCL-2 (apoptose)

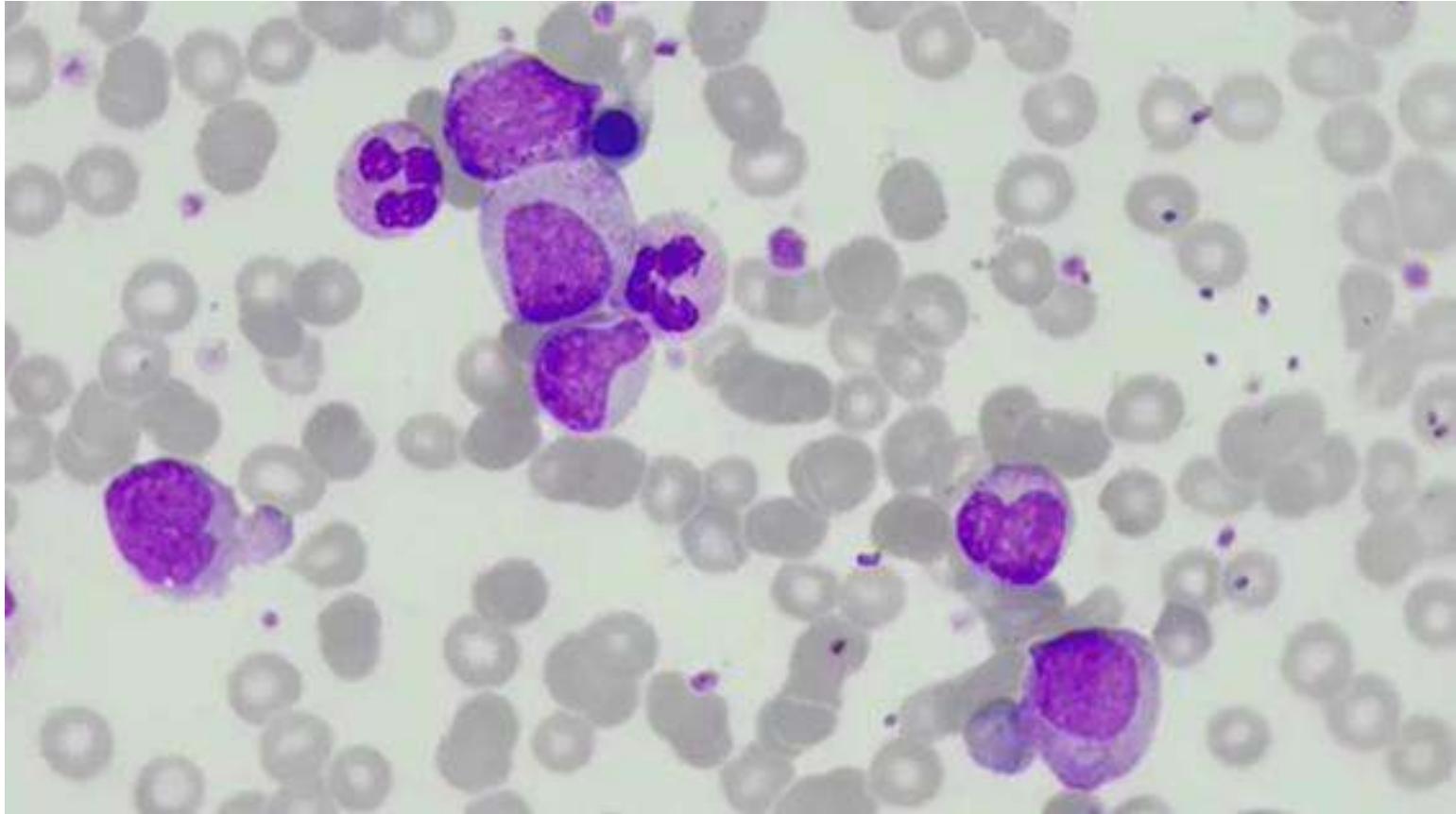


Cromossomo Ph+

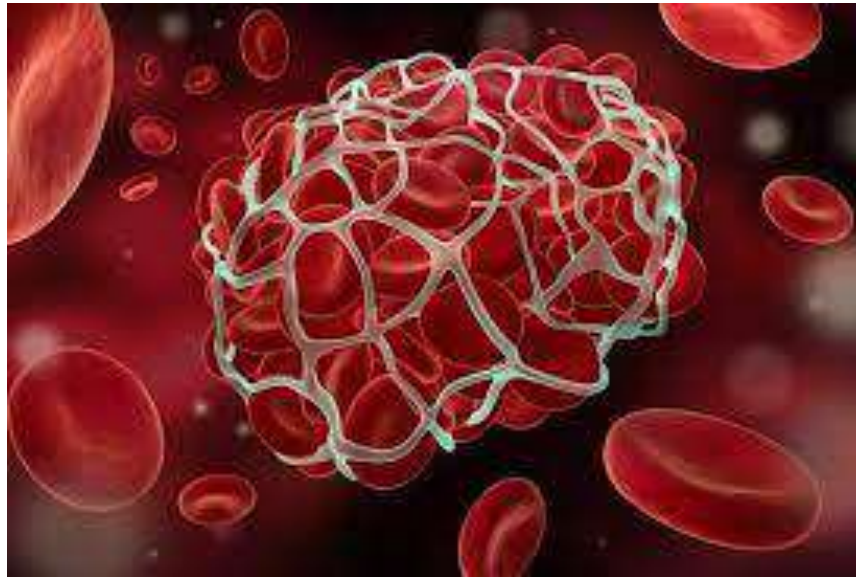
LMC



LMC



HEMOSTASIA



Sistema Hemostático

É o equilíbrio de pró-coagulantes e anticoagulantes, que o organismo possui, para manter a fluidez do sangue através do endotélio vascular.



Sistema Hemostático

Sequência de eventos integrados que envolvem:

- Vasos sanguíneos
- Plaquetas
- Fator de von Willebrand
- Proteínas da coagulação
- Inibição da coagulação
- Fibrinólise
- Anticoagulantes naturais

Objetivo → interromper sangramentos provenientes de lesão vascular e manter a fluidez do sangue

Hemostasia

- ◆ Hemostasia Primária

 - Vasos

 - Plaquetas

 - Fator de von Willebrand

- ◆ Hemostasia Secundária

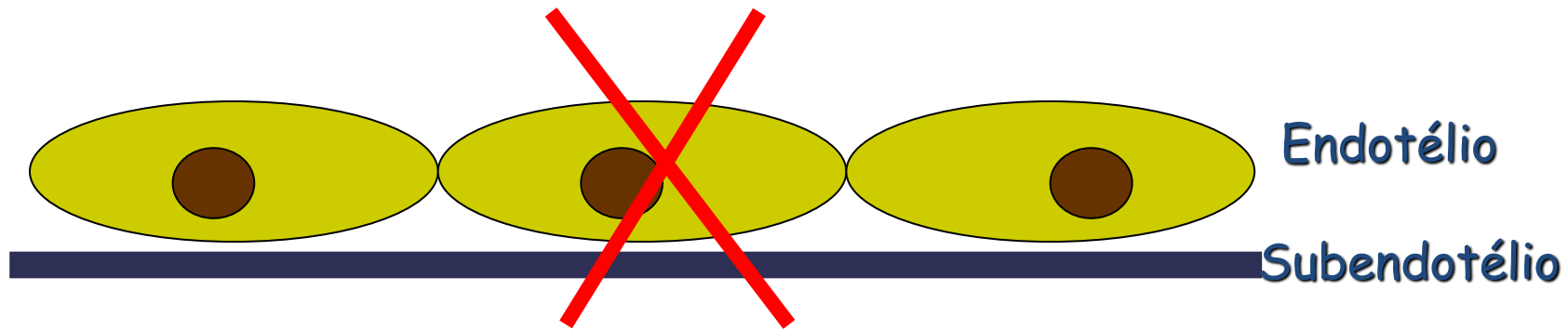
 - Fatores da Coagulação

- ◆ Inibidor da Coagulação

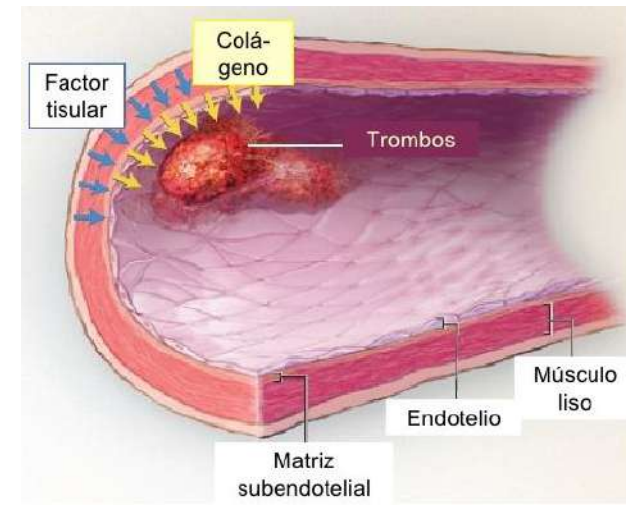
- ◆ Sistema Fibrinolítico

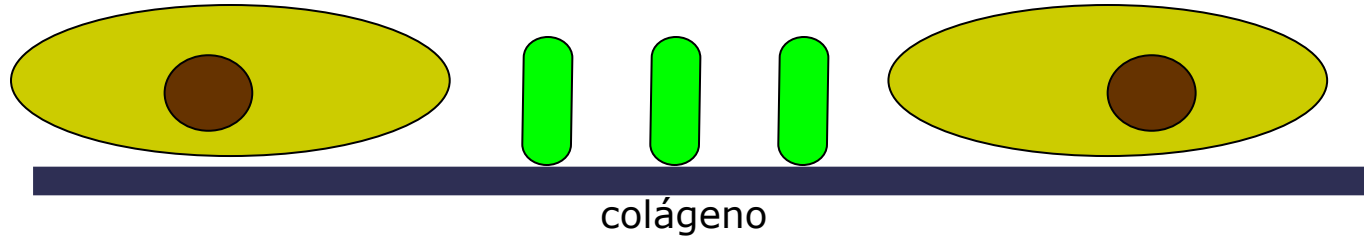
- ◆ Anticoagulantes Naturais

Sistema Hemostático

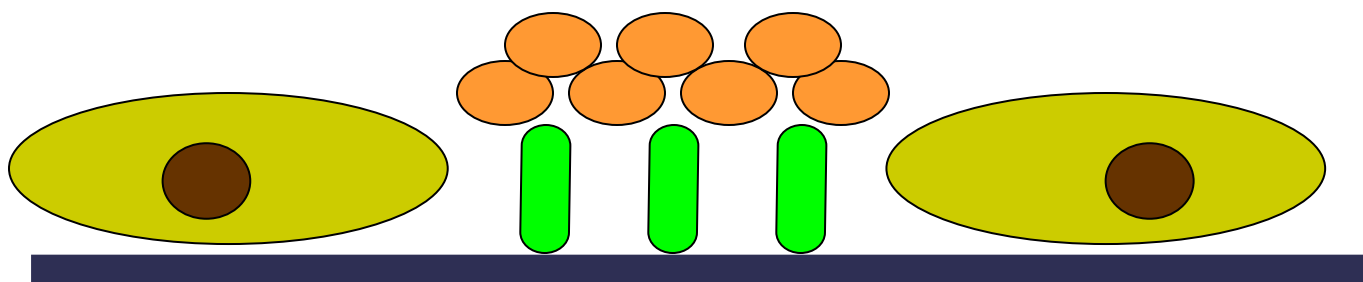


Lesão vascular

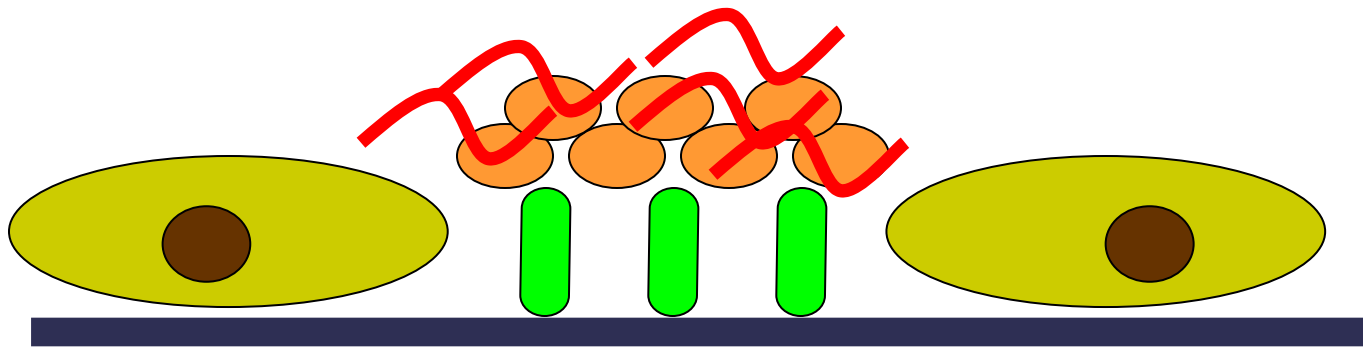




Fator de von Willebrand

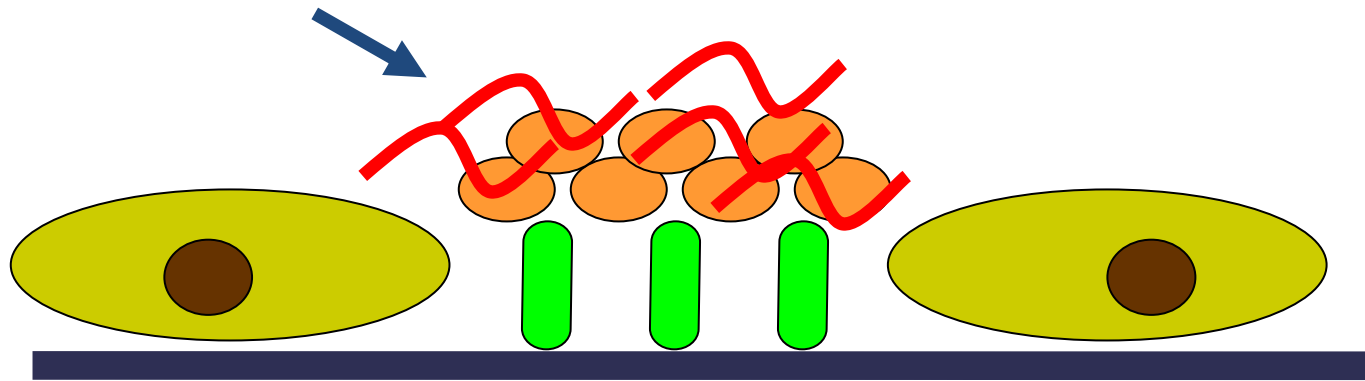


 **Plaqueta**



Fibrina

Sistema Fibrinolítico



Células Endoteliais

- Constituintes da superfície interna dos vasos sanguíneos
- Regulação do fluxo sanguíneo, tônus vascular, pressão sanguínea

Prostaciclina



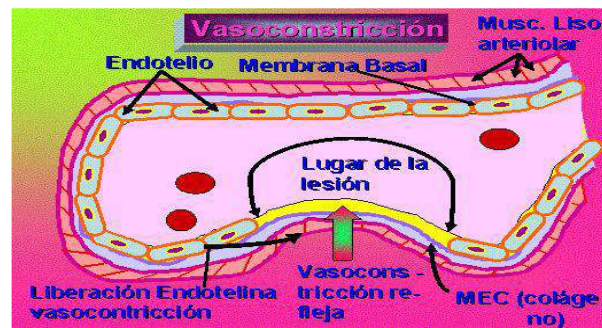
Vasodilatação

Endotelina / PAF



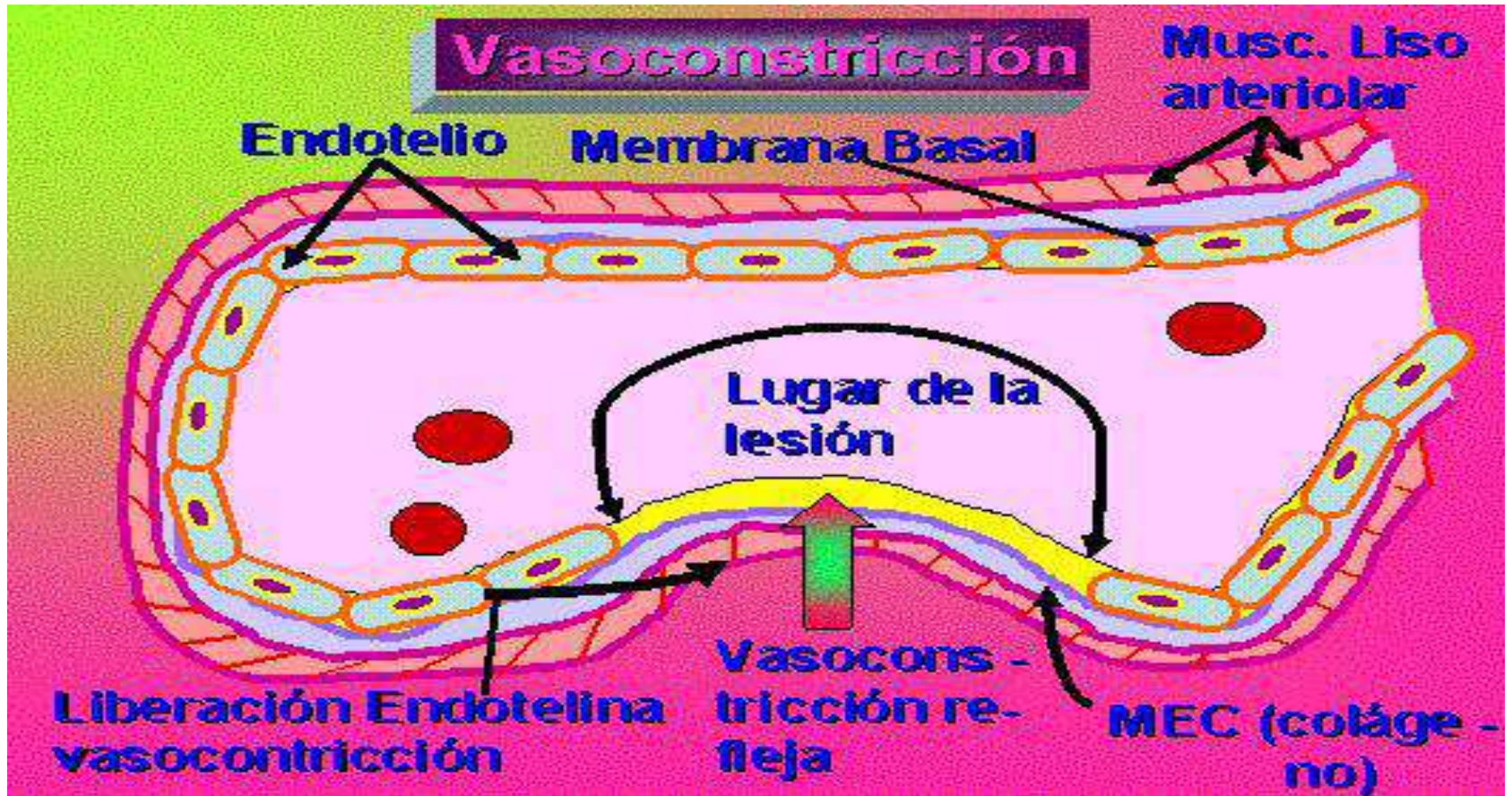
Vasoconstrição

- Propriedades antitrombóticas e trombogênicas



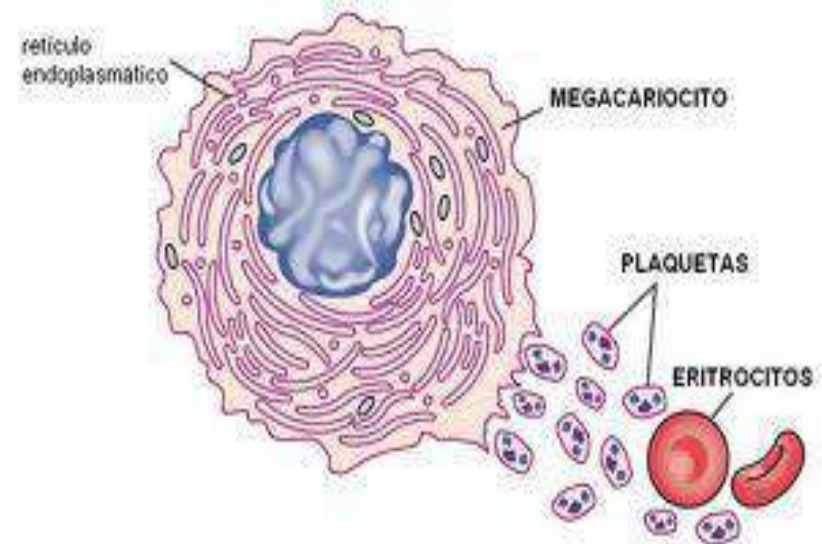
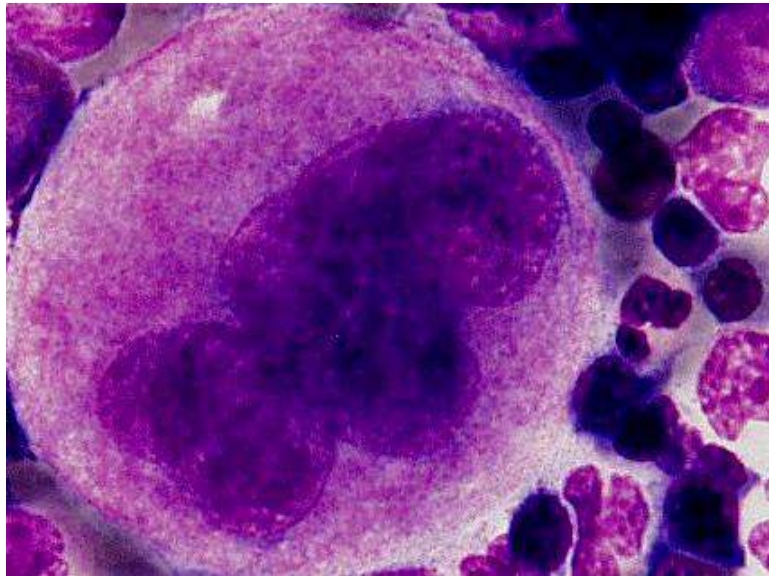
PAF – ativador plaquetário

Células Endoteliais

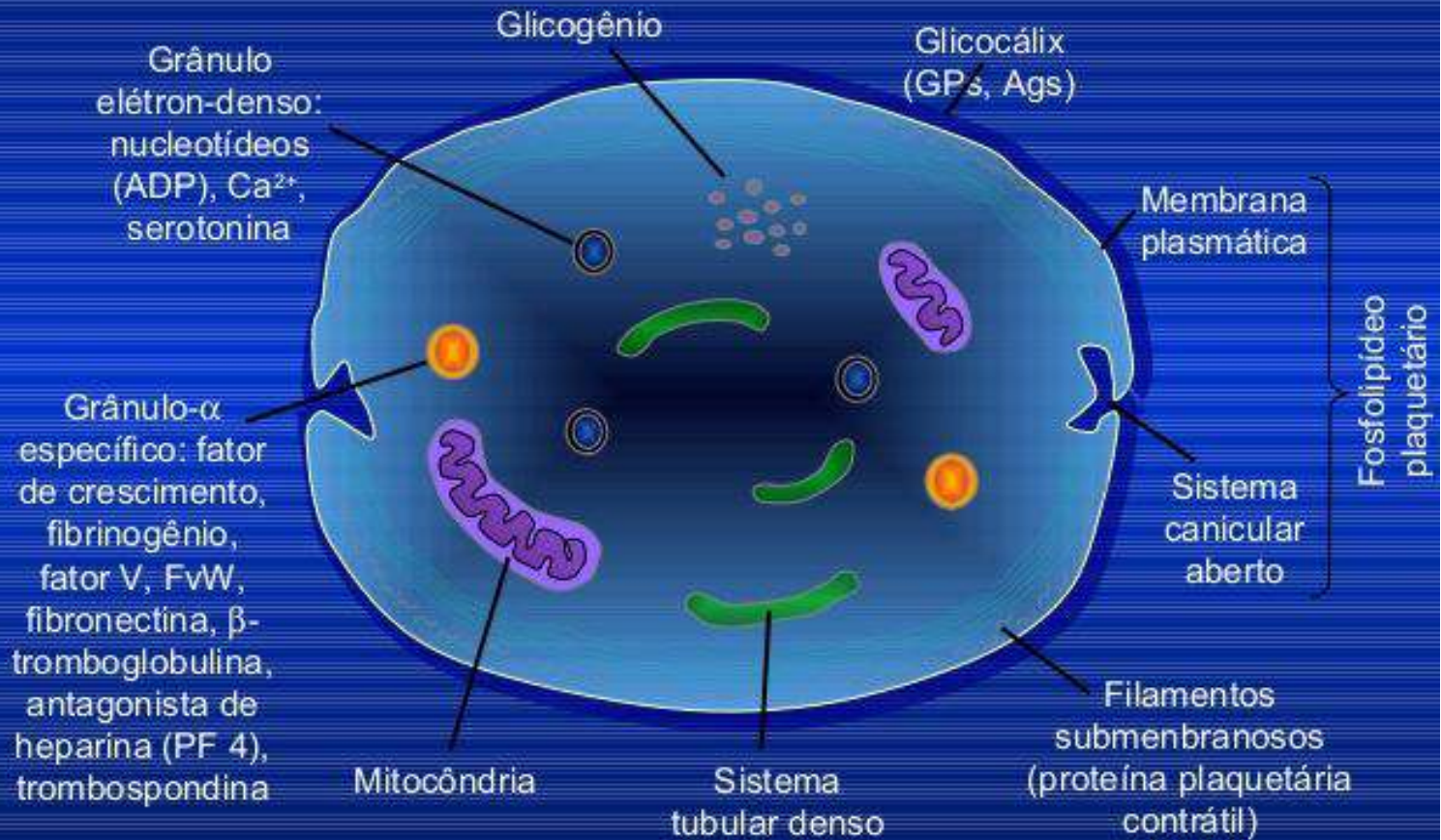


Plaquetas

- Produzida a partir dos megacariócitos na *MO*
- Fragmentos celulares: forma discóide
- Período de vida: 8 a 14 dias
- Valores normais: 150.000 a 450.000/mm³
- Função: adesão / agregação



PLAQUETAS -ESTRUTURA



Ultraestrutura da Plaqueta

CONSTITUINTES DOS GRÂNULOS E FUNÇÕES

Grânulos densos:

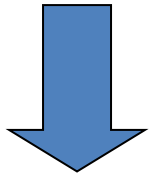
- ADP (adenosina difosfato), cálcio, serotonina (indutor de vasoconstrição)

Grânulos alfa:

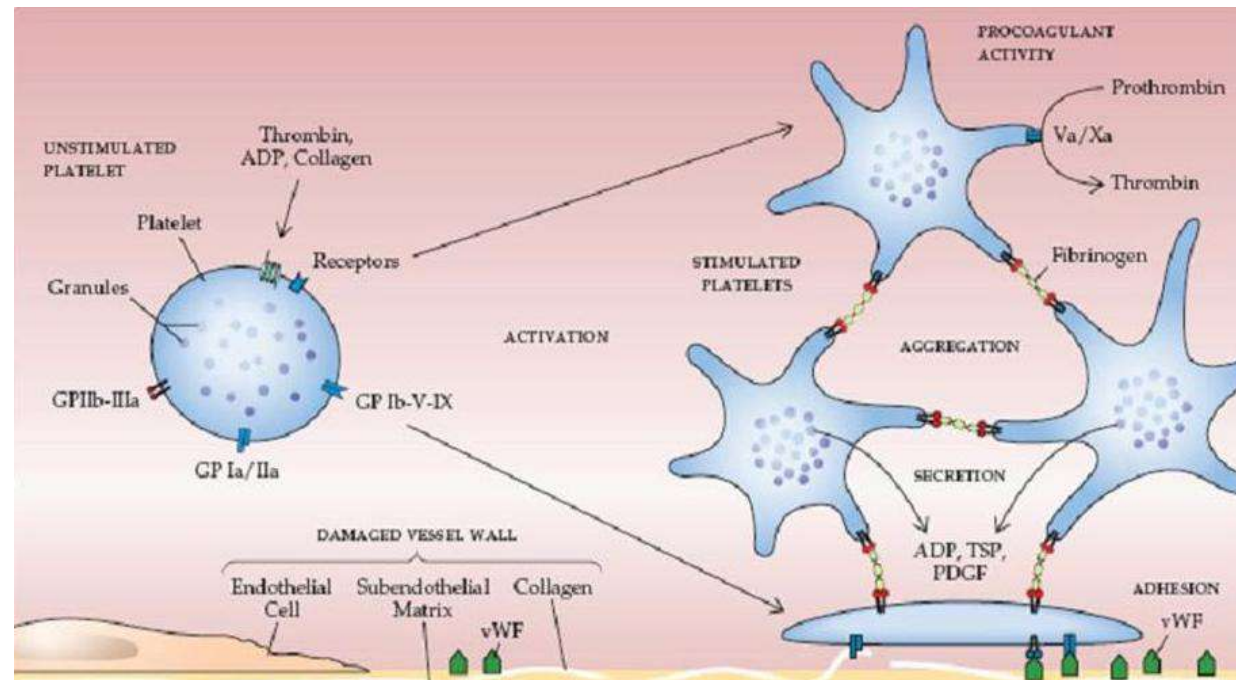
- Fibrinogênio, fator vonWillebrand, trombospondina e fibronectina (proteínas c/ atividade de adesão e agregação plaquetária)
- β -tromboglobulina (inibidor da prostaciclina pelas células endoteliais)
- fator V e XI (proteínas coagulantes)
- fator plaquetário 4 (antagonista de heparina)
- PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas)

Hemostasia primária - plaquetas

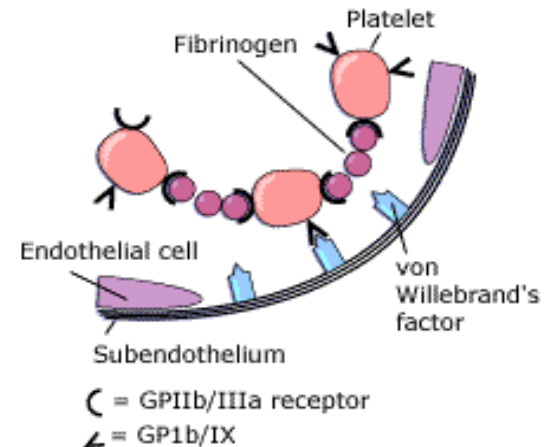
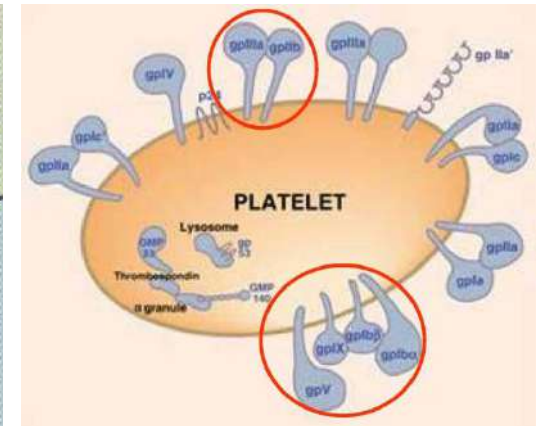
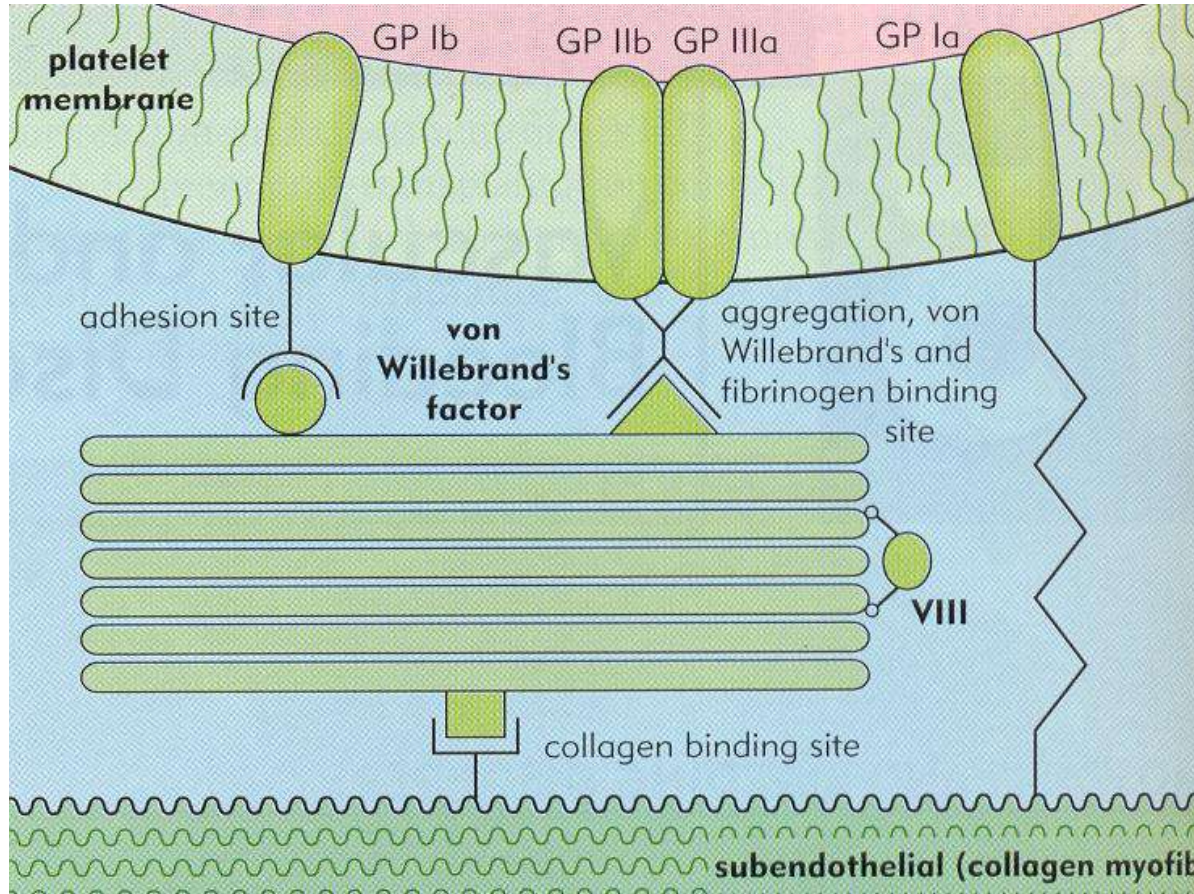
1. adesão plaquetária
2. mudança de forma
3. liberação dos componentes granulares
4. recrutamento plaquetário
5. agregação



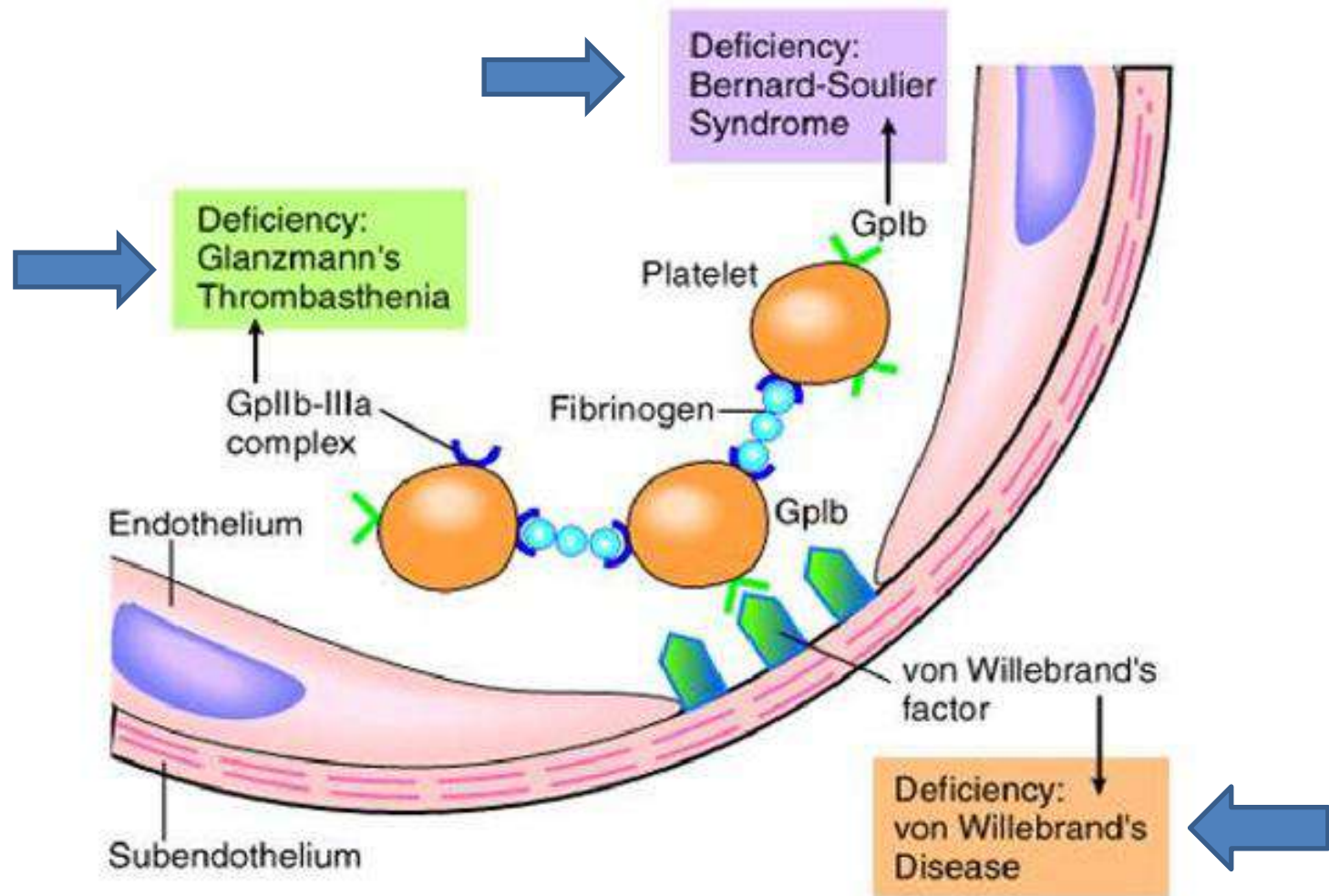
Tampão hemostático primário



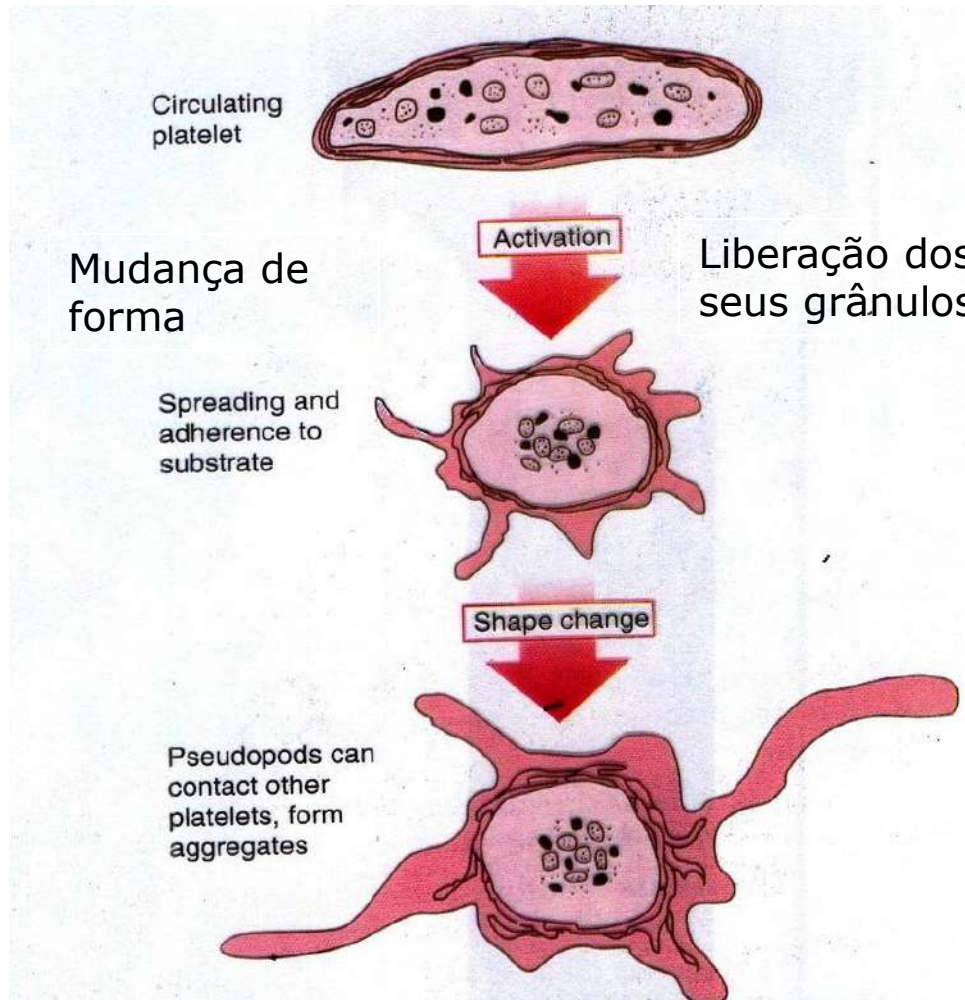
Adesão/ Agregação Plaquetária



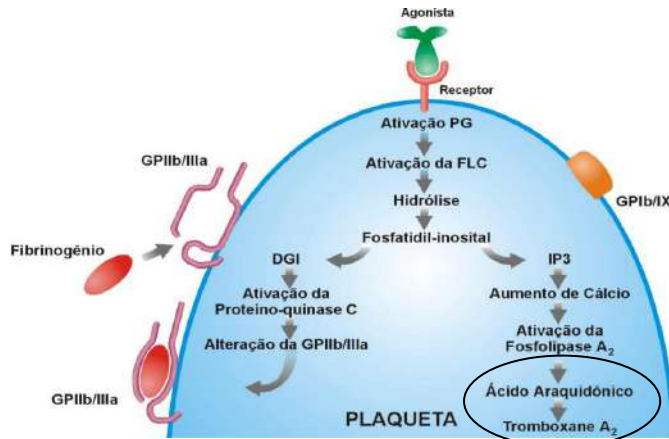
Adesão/Aggregação Plaquetária



Ativação Plaquetária



Ativação Plaquetária



FOSFOLIPÍDIOS DA MEMBRANA
PLAQUETA CEL. ENDOTELIAL

ÁCIDO ARACDÔNICO

CICLO-OXIGENASE

ENDOPEROXIDASE
PGG₂ PGH₂

TROBOXANE
SINTETASE

PROSTACICLINA
SINTETASE

TROMBOXANE A₂

PROSTACICLINA PGI₂

Aspirina



Inibição da COX

Após última dose: 5 a 6 dias → 50%
das plaquetas com função normal

Fatores da Coagulação

- Proteínas (zimogênios)
- Síntese : hepatócitos
- Fator V também sintetizado em megacariócitos (25% em α -grânulos de plaquetas)
- Fator tecidual (fator III) - tecidos / plaquetas
- Proteínas vitamina K - dependentes :
fatores **II, VII, IX, X** ; proteínas **C e S**

Vitamina K1 - vegetais;

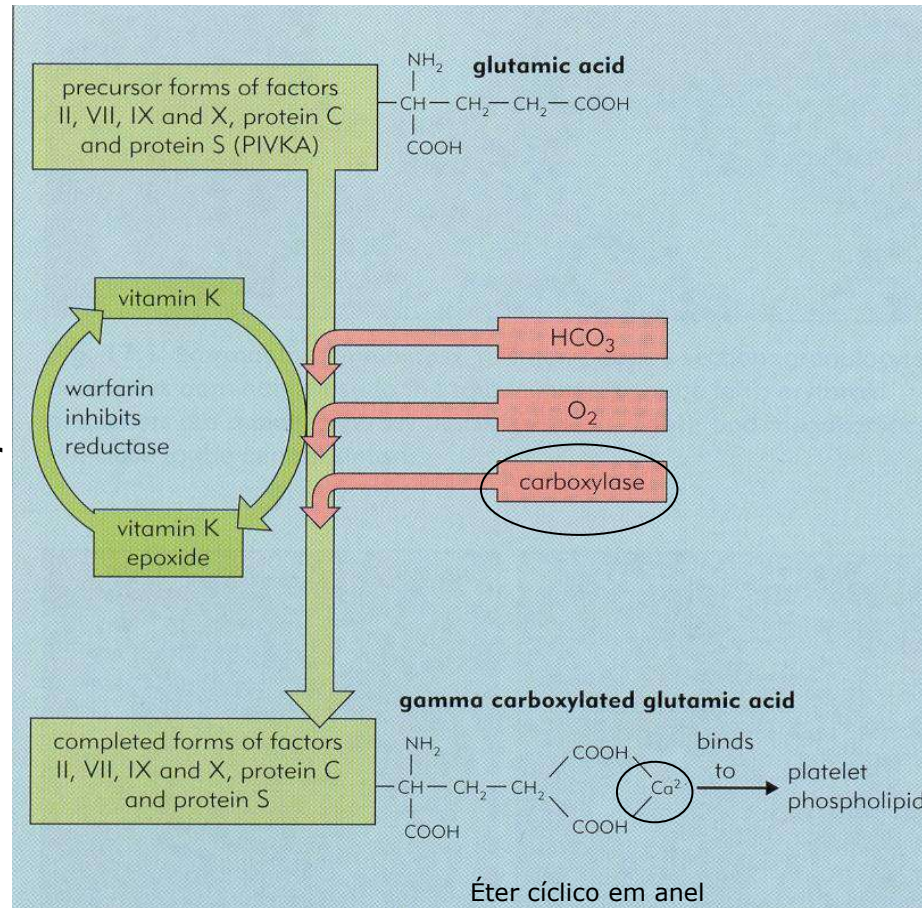
Vitamina K2 - sintetizadas por bactérias do TGI

Co-fator na carboxilação do ácido glutâmico residual desses fatores =
ácido γ -carboxiglutâmico - sítio de ligação do Ca^{++})

Fatores da Coagulação

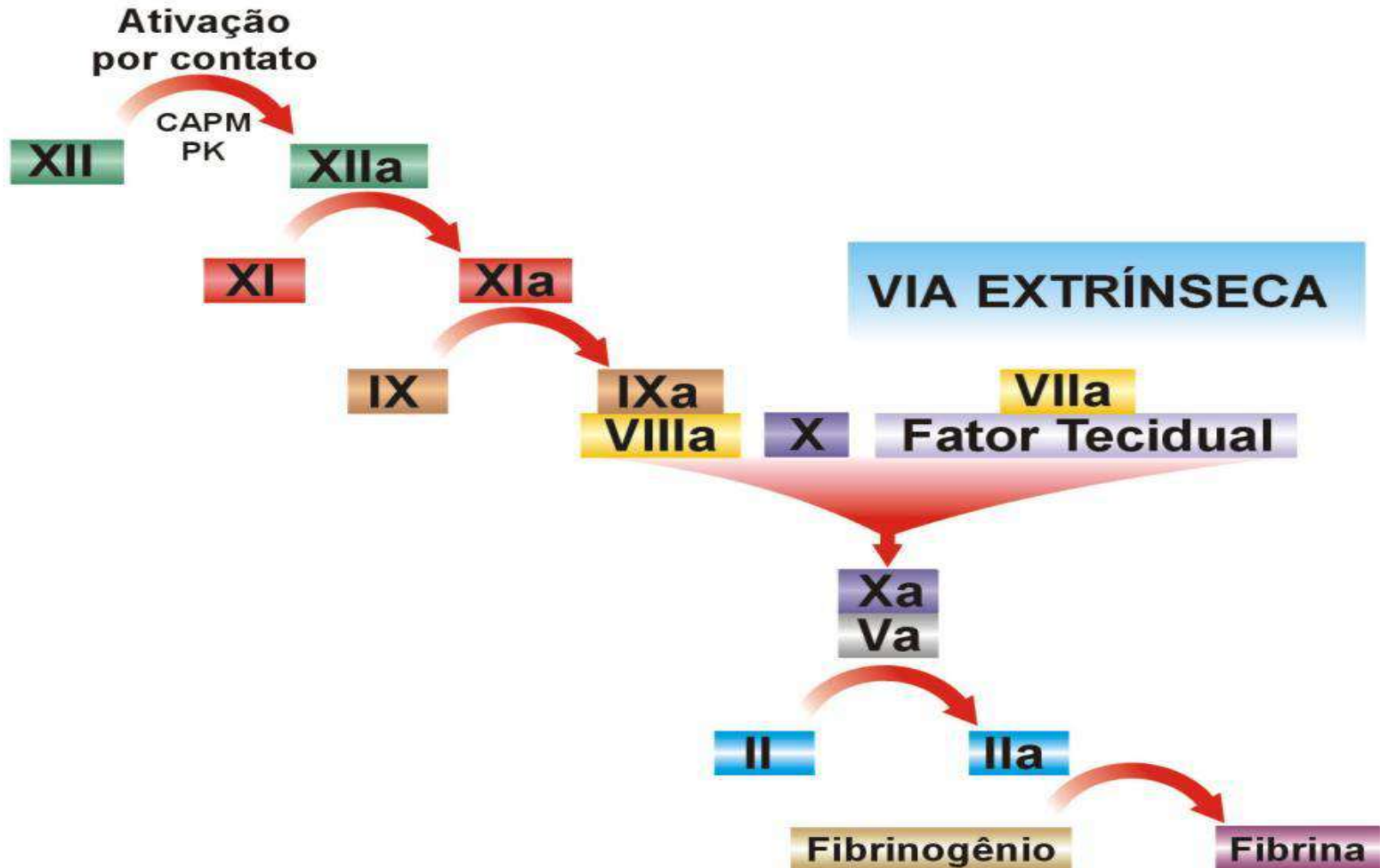
- Proteínas vitamina K - dependentes :

Vitamina K
co-fator



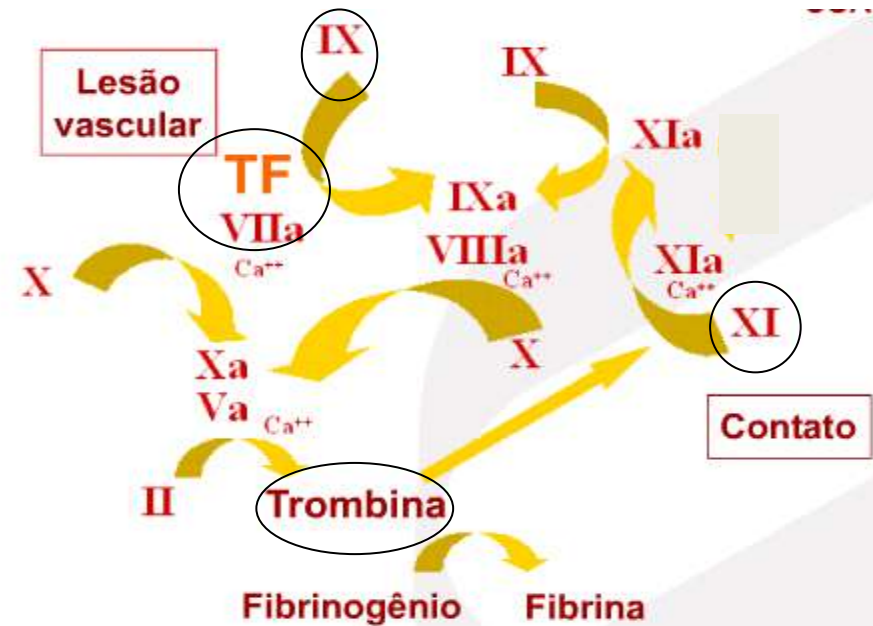
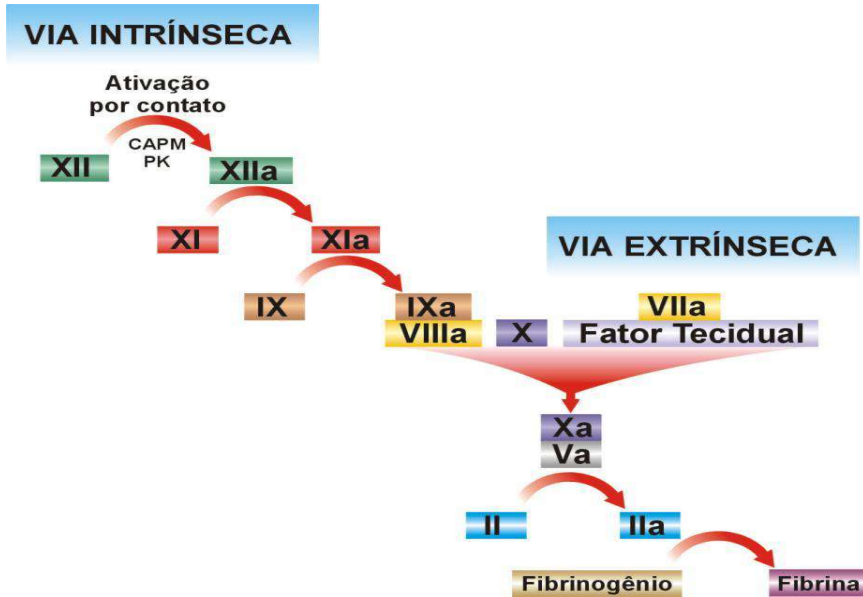
Cascata da Coagulação

VIA INTRÍNSECA



CAPM – cininogênio de alto peso molecular; PK – pré-caliceína

Cascata da Coagulação



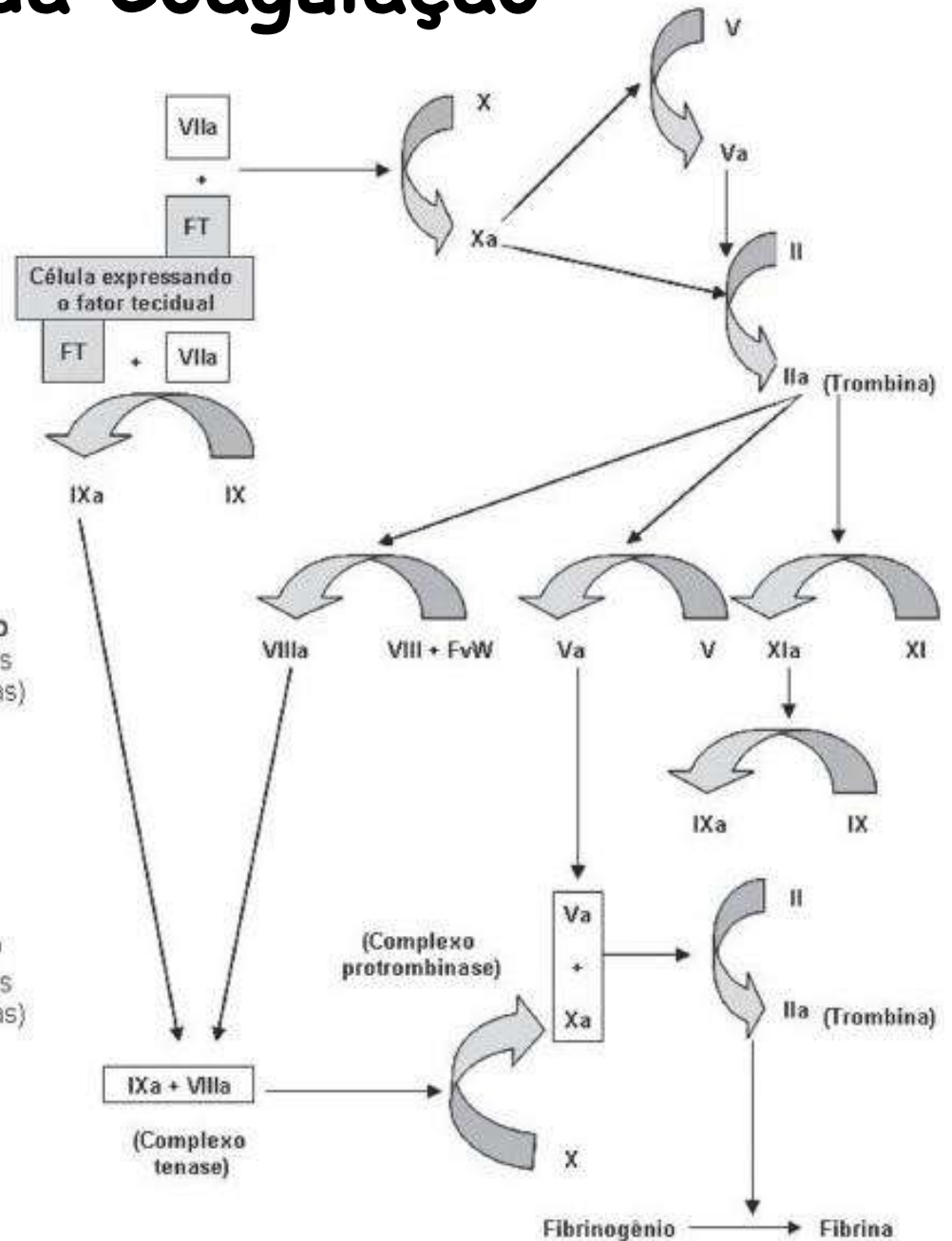
Cascata da Coagulação

3 fases

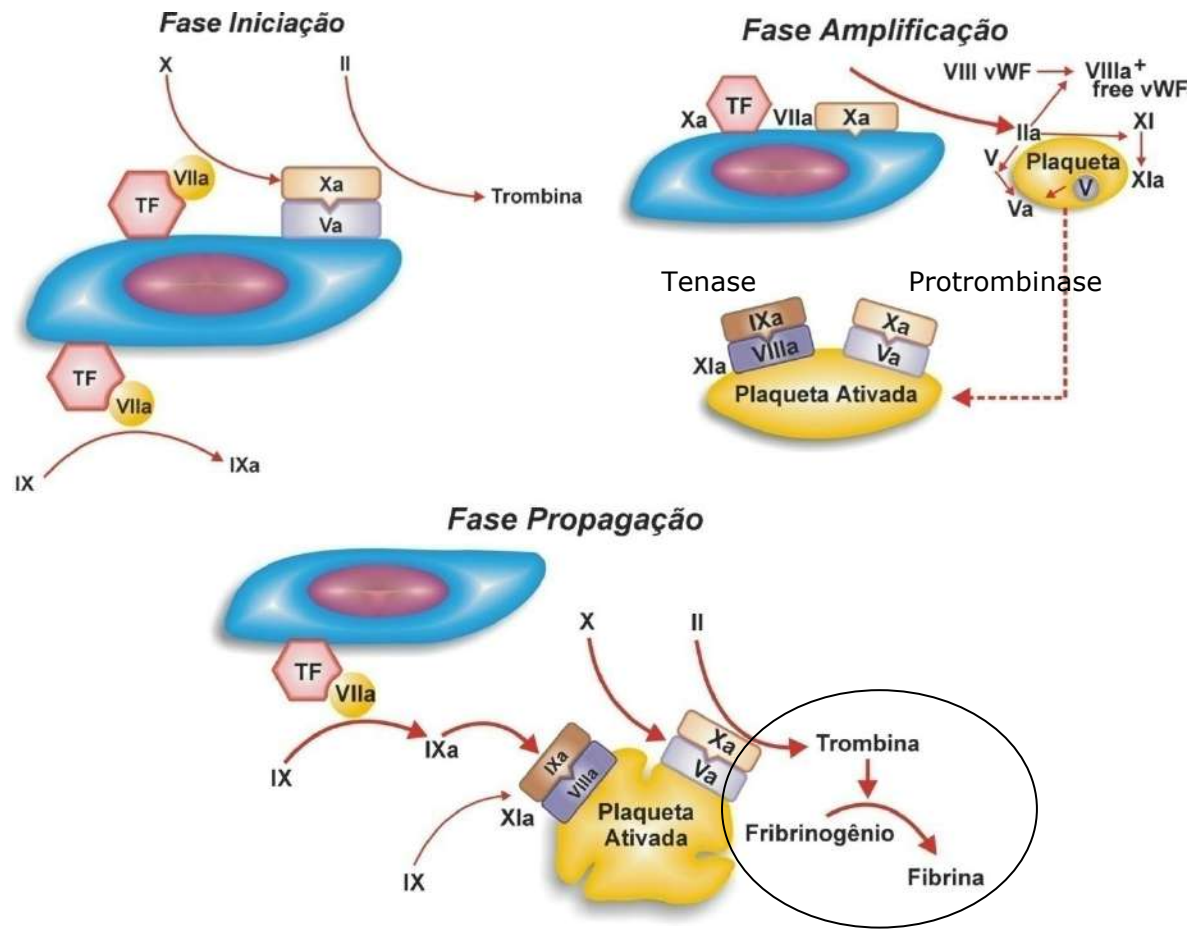
Iniciação
(nas células que expressam o FT)

Amplificação
(na superfície das plaquetas ativadas)

Propagação
(na superfície das plaquetas ativadas)

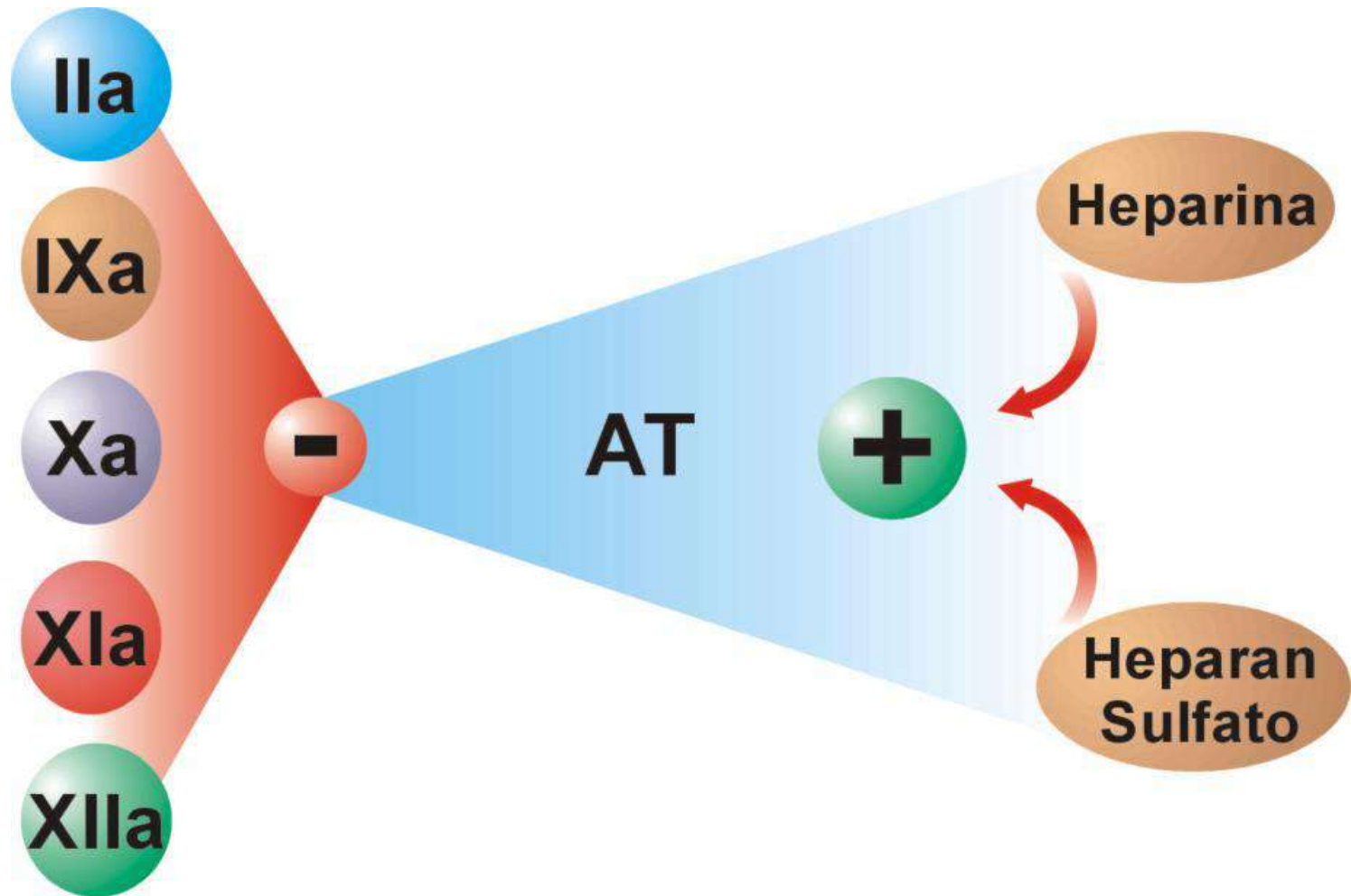


Cascata da Coagulação



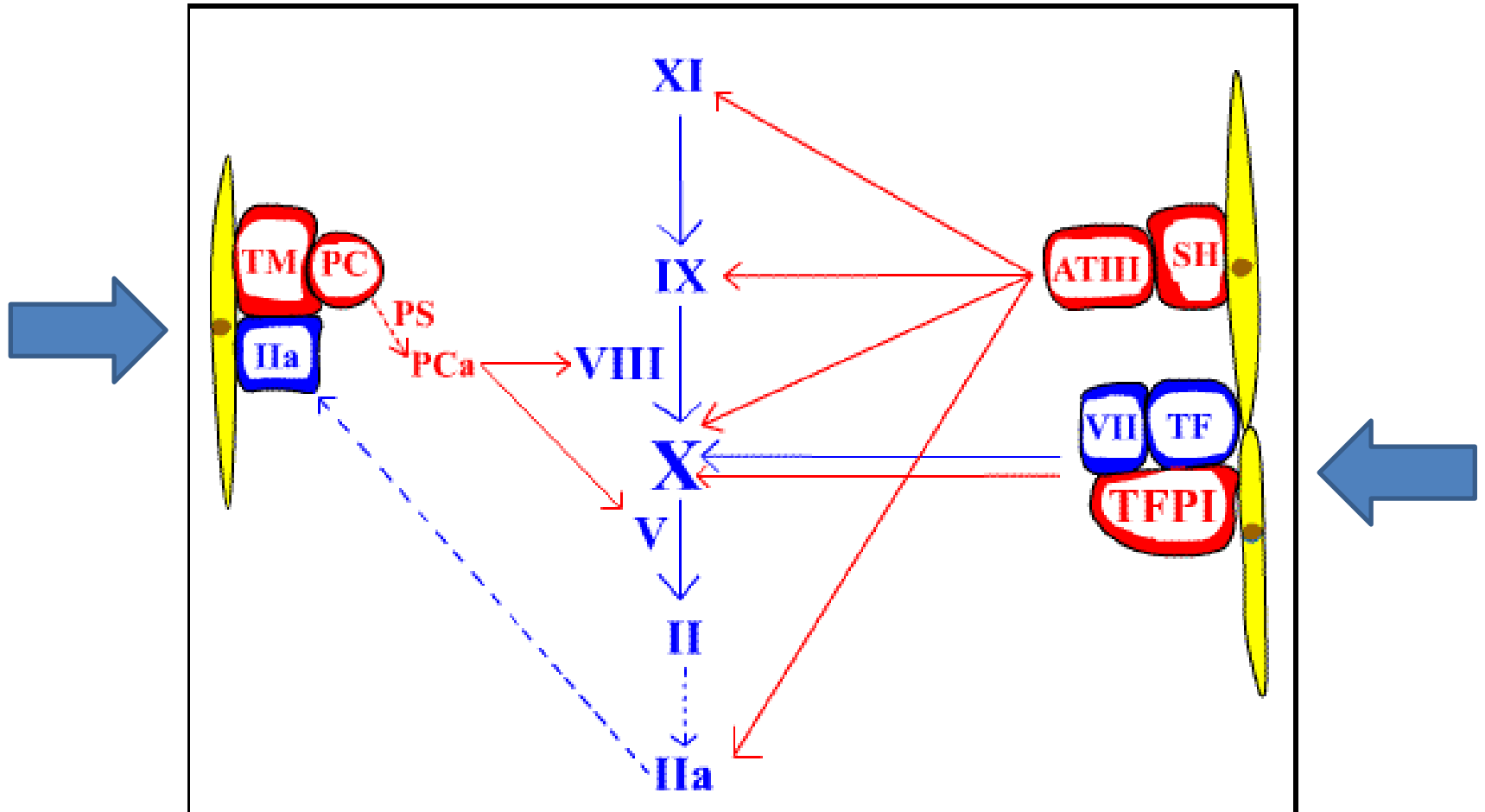
Novo Modelo da Cascata de Coagulação Sanguínea.

Inibição da Coagulação



AT=ANTITROMBINA III

Inibição da Coagulação

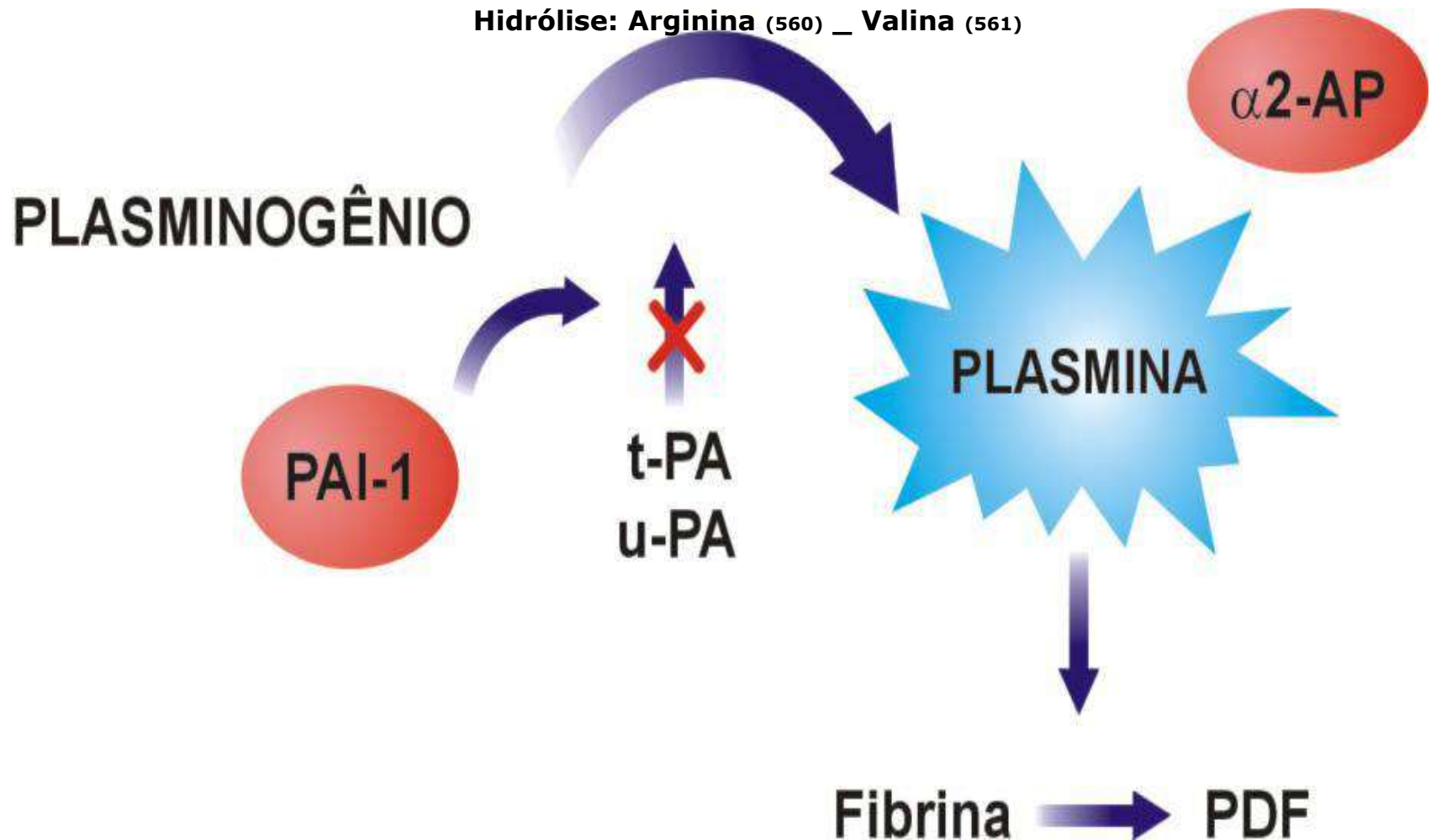


TFPI - Inibidor da Via do Fator Tecidual
TM - trombomodulina

Componentes do Sistema Fibrinolítico

- **Plasminogênio** = proenzima
- **Plasmina** = enzima fibrinolítica ativa
- **t-PA** = ativador de plasminogênio tecidual
- **u-PA** = ativador de plasminogênio urokinase, isolado em cultura de células dos rins
- **PAI-1** = inibidor do ativador de plasminogênio de ação rápida, secretado por células endoteliais
- **α_2 antiplasmina** = inibidor específico de plasmina no plasma humano

Fibrinólise



PDF – produto de degradação de fibrina

Avaliação da coagulação -TP / TTPA



Princípio: turbodensitometria





Controle de Qualidade em Banco de Sangue

Controle de qualidade – Banco de sangue

Finalidade do Controle de Qualidade de Hemocomponentes:

- Prevenir;
- Detectar;
- Identificar;
- Corrigir.

Portaria nº1.353, de 13 de junho de 2011 - Art. 61

“Os serviços de hemoterapia deverão realizar o controle de qualidade sistemático de todos os tipos de hemocomponentes que produzirem”.

Controle de qualidade – Banco de sangue

Análises realizadas no Controle de Qualidade de Hemocomponentes:

- Inspeção visual;
- Testes laboratoriais;
- Controle microbiológico.



Controle de qualidade – Banco de sangue

Inspeção visual:



Controle de qualidade – Banco de sangue

Inspeção visual:



coágulos



objeto estranho

Controle de qualidade – Banco de sangue

Plasma fresco

RDC – 1% da produção ou 3 por dia (aleatório)

- contagem de hemácias
- contagem de leucócitos
- contagem de plaquetas
- aparência (límpido ou levemente turvo)

Câmara de Nageotte / Neubauer

Plasma (rico em plaquetas)

- dosagem do fator VIII e fibrinogênio
- agregação plaquetária - aceitável acima de 70% de atividade



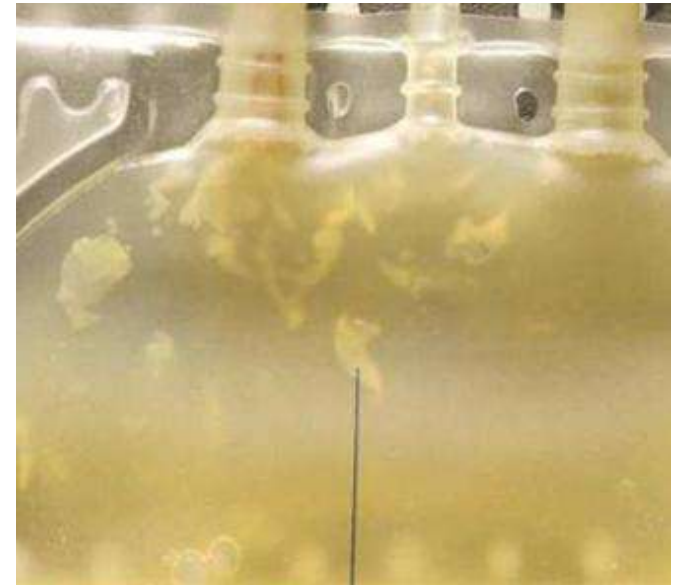
Controle de qualidade – Banco de sangue

Plaquetas por aférese

Análise de todas – 100%

- já são leucorreduzidas na coleta

- contagem de plaquetas
- contagem de leucócitos
- teste de *Swirling*
- microbiologia – cultura (automação)
- afere consumo de O₂ – leitor

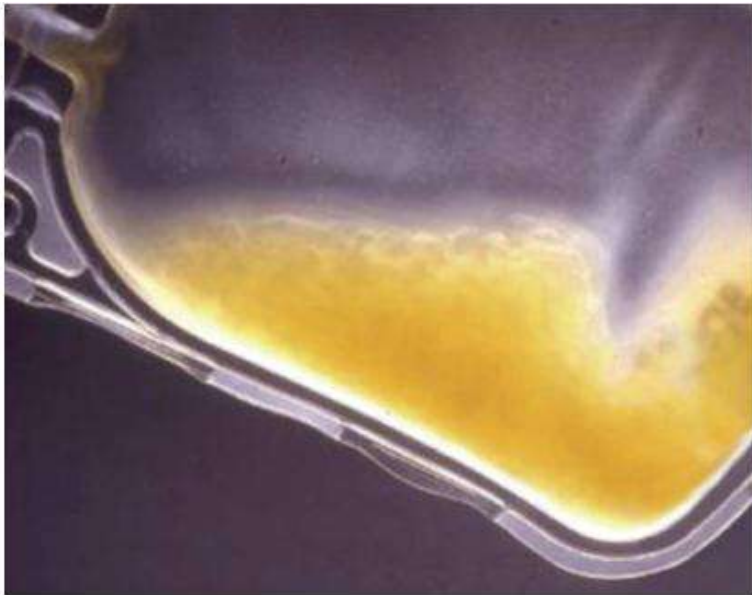


grumos

Teste de *Swirling*

- as plaquetas são discóides – formação de uma nuvem branca
- plaquetas ativadas pelos processos mecânicos – sem formação dessa nuvem branca

Controle de qualidade – Teste de Swirling



Presença de *Swirling*



Ausência de *Swirling*

Controle de qualidade – Banco de sangue

Poll plaquetário

Análise de 1% ou 10 unidades mensais

- passaram por leucorredução

- contagem de plaquetas
- contagem de leucócitos
- teste de *Swirling*
- microbiologia – cultura (automação) - faz de todas as bolsas



Teste de *Swirling*

- as plaquetas são discóides – formação de uma nuvem branca
- plaquetas ativadas – sem formação dessa nuvem branca

Controle de qualidade – Banco de sangue

Concentrado de hemácias (CH)

Análise – 1% ou 3 por dia (aleatória)

- diluição 1:2

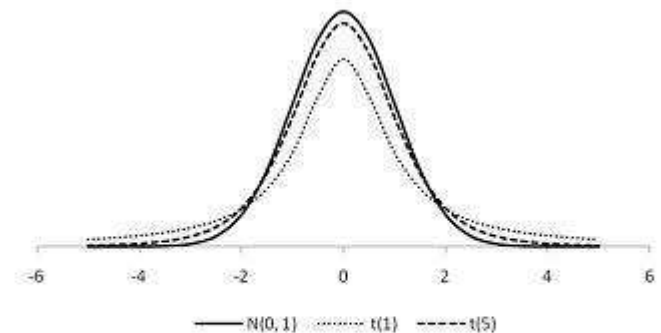
- Ht (65 a 80%)
- Hb
- contagem de hemácias
- contagem de leucócitos
- dosagem de proteína ($< 0,5\text{g/U}$)
- grau de hemólise ($< 0,8\%$)
- cultura (automação)



CH lavadas

- Avaliação do Ht e Hb pré e pós lavagem

Se a dosagem de proteínas der alta?



Se o Ht der baixo o que pode ter acontecido?
O que fazer nesse caso?

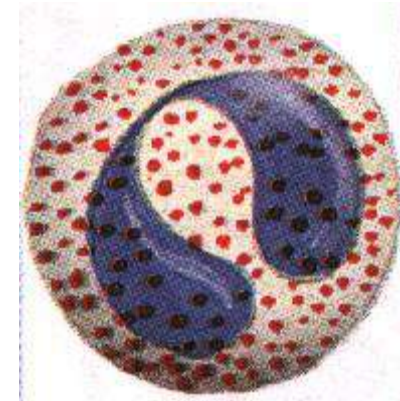
Controle de qualidade – Banco de sangue

Granulócitos por aférese

Análise de 100%

- diluição 1:10

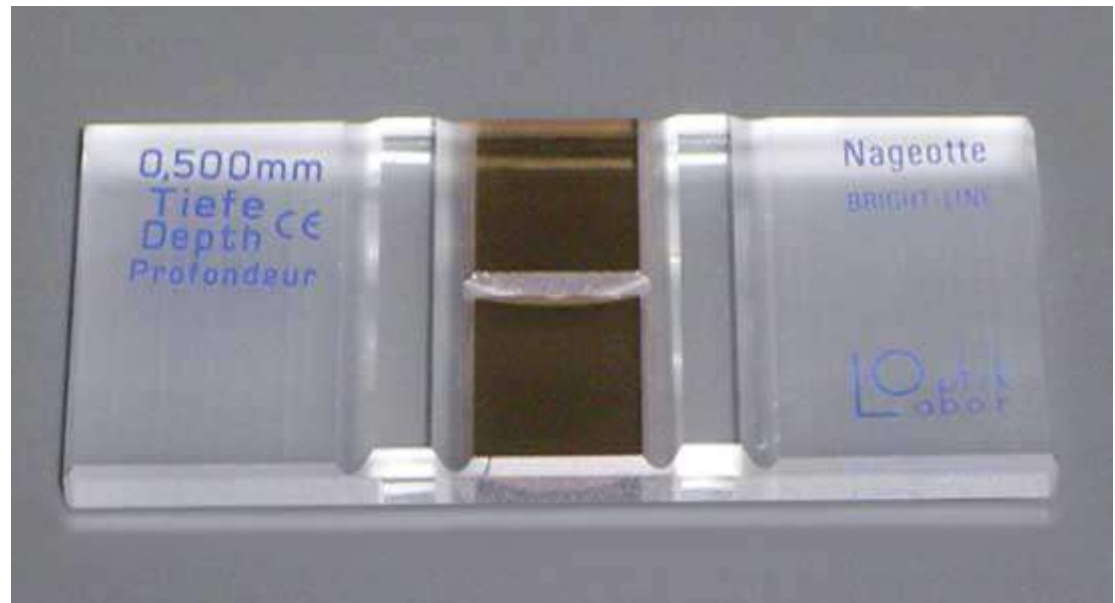
- Ht
- Hb
- contagem de hemácias
- contagem de leucócitos
- diferencial dos leucócitos
- cultura (automação)



Controle de qualidade – Banco de sangue

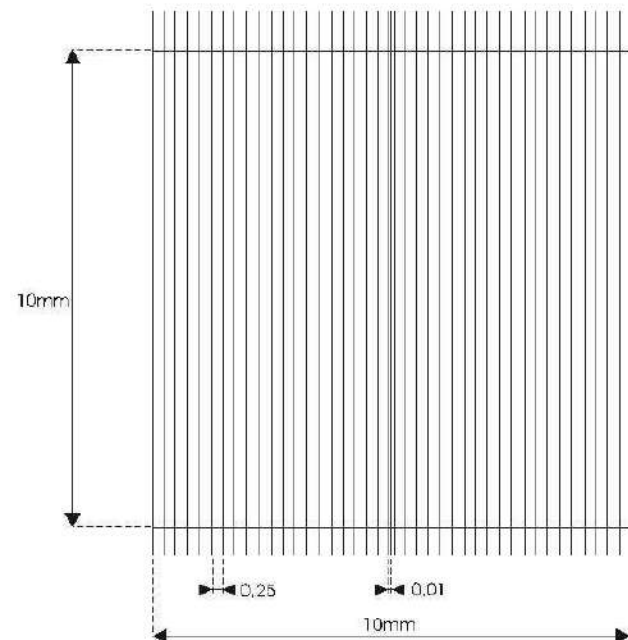
Câmara de Nageotte
4 células ou menos

Se der + de 4 células?



Todas as contagens são realizadas por duas pessoas

40 linhas



Controle de qualidade – Banco de sangue

Cultura
Bactalert 3D



Meio de cultura escuro : -
Meio de cultura claro: +



Controle de qualidade – Banco de sangue

BDS Oxygen Analyzer



Mantém a integridade
das plaquetas

2 pastilhas de TSA (tripcase soy agar) / meio rico em Ca.



Qualquer bactéria

Controle de qualidade – Banco de sangue

Analizador de hemólise



Controle de qualidade – Banco de sangue

Não conformidade – como proceder?

- Investigar as etapas;
- Identificar a causa;
- Promover uma ação corretiva;
- Validar o processo com novos testes;
- Registrar e arquivar.



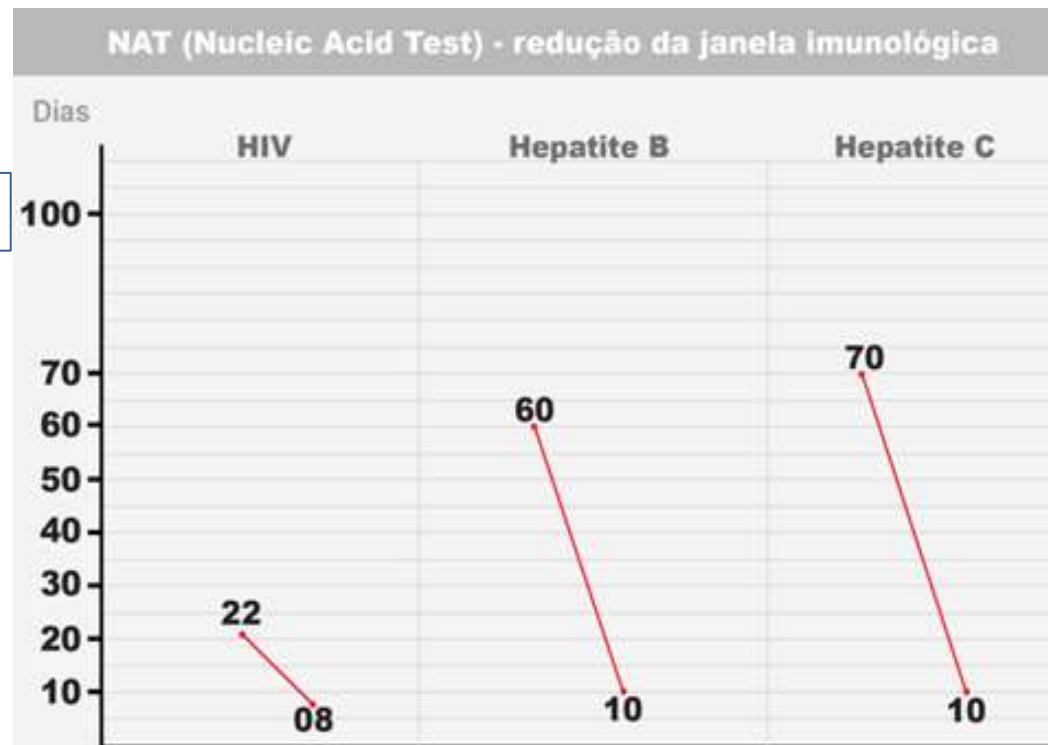
Controle de qualidade – Banco de sangue

Portaria fev./2014 para os Banco de Sangue no Brasil

NAT – Teste de ácido nucleico - ↓ tempo da janela imunológica



Pesquisa o material genético do vírus



Controle de qualidade – Banco de sangue

NAT – Teste de ácido nucleico - ↓ tempo da janela imunológica

